



This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

Usage guidelines

Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

- + *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.
- + *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.
- + *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.
- + *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

About Google Book Search

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at <http://books.google.com/>

3



*Zentralblatt für Bakteriologie,
Parasitenkunde und ...*



3 2044 106 401 847

43 - C37ba
v.7, 1901

W. G. FARLOW.

43 C37ba v.7

Harvard University



FARLOW
REFERENCE LIBRARY
OF
CRYPTOGAMIC BOTANY

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung. VII. Band.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde
und Infektionskrankheiten.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens** in Weinsberg i. W.,
Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Dr. **v. Freudenreich** in Bern,
Privatdocent Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin,
Dr. **G. Harris Morris** in London, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in
Wädenswil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A.,
Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Wehmer** in
Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky**
in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. Oscar Uhlworm in Berlin

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Zweite Abteilung. VII. Band.

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie
und Pflanzenpathologie.

Mit 24 Tafeln und 52 Abbildungen im Texte.

J e n a ,
Verlag von Gustav Fischer.
1901.

1911

1

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Prof. Dr. J. Behrens in Weinsberg i. W.,
Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Dr. v. Freudenreich in Bern, Privatdocent
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Dr. G. Harris Morris
in London, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädenswil, Dr. Erwin F. Smith in
Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr.,
Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel
und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VII. Bd.

Jena, den 5. Januar 1901.

No. 1.

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

*Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die
Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung
der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.*

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Ueber die oxydierenden Bestandteile und die Fermentation des deutschen Tabaks.

[Aus der landw.-botanischen Versuchsanstalt zu Karlsruhe.]

Von Dr. J. Behrens.

Im Jahre 1899 veröffentlichte O. Loew¹⁾ eine interessante
Arbeit über die Fermentation des Cigarrendeckblattes, worin er

1) Loew, O., Curing and fermentation of cigar leaf tobacco. (U. S. Department of agriculture. Report No. 59. Washington 1899.)

im Gegensatz zu der allgemein herrschenden Ansicht zu dem Resultate kommt, daß nicht Bakterien, sondern gewisse Bestandteile, oxydierende Enzyme, des Tabakblattes selbst die Ursache der Selbsterwärmung und der für den Gebrauchszweck wesentlichen Veränderungen des Tabaks (Aroma und Farbe) bei der Fermentation seien. Loew fand in frischen Tabakblättern allgemein eine Oxydase und eine Peroxydase, indem der Saft derselben direkt Guajak-tinktur bläute und, nachdem er diese Eigenschaften durch Erhitzen auf 65—66° C verloren hatte, noch immer eine mit Wasserstoffsperoxyd versetzte Guajakharzlösung bläute, Guajakol oxydierte. Die letztere Eigenschaft verlor der Saft erst durch Erhitzen auf über 87°. Die letztere Temperatur wäre also die Tötungstemperatur für die Peroxydase, eine solche von ca. 70° für die Oxydase. Im dachreifen Tabak fand Loew selbst schon diese Fähigkeiten nicht immer an. Während Florida-Tabak die Reaktion der Oxydase noch im dachreifen Zustande gab und erst im fermentierten verloren hatte, in diesem aber noch immer die „Peroxydase“-Reaktion gab, erwies sich dachreifer Connecticut-Tabak schon vollständig frei von „Oxydase“ und fermentierter sogar fast frei von „Peroxydase“. Ebenso fand Raciborski, daß im Vorstenlanden-Tabak sowohl Oxydase wie Peroxydase (Leptomin) bereits beim Trocknen verschwunden waren, mithin bei der Fermentation auch keine Rolle mehr spielen konnten¹⁾.

Schon durch die letztere Beobachtung ist der Ansicht Loew's die allgemeine Geltung abgesprochen, und sie kann zunächst höchstens für die Fermentation des Florida-Tabaks Giltigkeit beanspruchen. Es schien mir indes von Interesse auch das Verhalten des deutschen Tabaks gegenüber Guajak-tinktur etwas näher zu untersuchen. Ich werde dabei, nach dem Vorgange Loew's, von „Oxydase“ und „Peroxydase“ sprechen, ohne aber dabei irgendwie mich mit der Ansicht Loew's, es handle sich bei der Farbenänderung um enzymatische Oxydationen, zu identifizieren. Darauf wird später zurückzukommen sein.

Frisch (Oktober 1899) gesammelte Geizen (Seitenzweige mit ansitzenden Blättern) von Tabakpflanzen wurden sofort über eine kleine Beerenmühle gehen gelassen und dann ausgepreßt. Durch Filtration wird ein brauner klarer Saft erhalten, der auf 58° und steigend bis 70° C erhitzt, einen reichlichen Niederschlag fallen läßt, der aber beim weiteren Erhitzen von 70 auf 100° sich nicht mehr vermehrt. Wird der auf 70° erhitzte Saft filtriert, so bleibt er bei weiterem Erhitzen klar. Erhitzter Saft ist etwas heller gefärbt als der ursprüngliche rohe Preßsaft. Was die Reaktion mit Guajak-tinktur angeht, so giebt der frische Saft mit Guajak-tinktur die „Oxydase“-Reaktion schwach, aber deutlich. In einem Wasserbade (Becherglas) auf 70° (Maximum 72°) erhitzt und nach Erreichung der Maximaltemperatur sofort filtriert, giebt nach dem

1) Verslag omtrent den Staat van s'Lands Plantentuin te Buitenzorg over het Jaar 1898. Batavia 1899. p. 84. — Vernhout, Onderzoek over bacterien bij de fermentatie der tabak. (Mededeelingen uit s'Lands Plantentuin. XXXIV. Batavia 1899. p. 49.)

Erkalten der Saft die „Oxydase“-Reaktion noch immer, mindestens ebenso deutlich wie vorher¹⁾. Einmal, ja selbst zweimal über der Flamme im Reagenzglas aufgeköcht, giebt der erkalte Saft freilich die „Oxydase“-Reaktion nicht mehr, aber sehr deutlich die „Peroxydase“-Reaktion nach Zusatz von H_2O_2 . Hydrochinonlösung wird durch Zusatz von Rohsaft allein nicht verändert, aber sofort stark oxydiert, als noch Wasserstoffsperoxyd zugefügt wird, während Hydrochinon mit Wasserstoffsperoxyd allein nur sehr langsam reagiert. Nach dem Erhitzen auf $70^\circ C$ ist der filtrierte Preßsaft mit und ohne H_2O_2 ohne Einwirkung auf Hydrochinon.

Um die Tötungstemperatur der „Oxydase“ festzustellen, wurden von dem über Nacht gestandenen Preßsaft, der eine geringe Menge Niederschlag hatte fallen lassen, gleiche Portionen in derselben Weise wie oben auf resp. $75, 80, 85, 90$ und $98,5^\circ C$ erhitzt. Sobald das eintauchende Thermometer die entsprechende Temperatur anzeigte, wurde durch ein trockenes Filter abfiltriert und das erkalte Filtrat mit Guajaktinktur auf „Oxydase“ geprüft. Bei den auf $75, 80$ und $85^\circ C$ erhitzten Portionen trat die „Oxydase“-Reaktion deutlich und, wenn überhaupt abnehmend, so jedenfalls nur in höchst wenig abnehmendem Grade auf. Die auf 90 und $98,5^\circ$ erhitzten Proben gaben Blaufärbung erst nach Zusatz von H_2O_2 .

Anders verhält sich der mit Wasser verdünnte Preßsaft. Als die Filtrate von den erwärmten Portionen des Preßsaftes stark mit Wasser verdünnt und dann wieder geprüft wurden, gaben die bis 80 und 85° erwärmten Proben nur noch die „Peroxydase“-Reaktion. Der auf $98,5^\circ$ erhitzte Saft gab diese nur bis zu einer gewissen Verdünnung, dann nicht mehr.

Als der rohe, nur filtrierte Preßsaft dieser Versuchsreihe mit dem doppelten Volumen Alkohol versetzt und dann vom Niederschlag abfiltriert wurde, gab das Filtrat noch immer die „Peroxydase“-Reaktion vorzüglich, aber keine „Oxydase“-Reaktion. Bei weiterem Alkoholzusatz (bis über 80 Volum-Prozent) fiel nichts mehr aus; die Blaufärbung bei Zusatz von Guajaktinktur und Wasserstoffsperoxyd trat auch in diesem alkoholreichen Extrakt noch ein.

Das Präparat einer weiteren Preßsaftdarstellung gab wieder die „Oxydase“-Reaktion sehr gut. Zur Darstellung der „Oxydase“ und „Peroxydase“ wurde nun mit absolutem Alkohol auf das dreifache Volumen aufgefüllt und dann filtriert. Das Filtrat gab keine „Oxydase“-Reaktion, wohl aber noch schwache „Peroxydase“-Reaktion, und war auf Hydrochinon sowohl ohne wie mit Wasserstoffsperoxyd ohne Wirkung. Der Niederschlag wurde in noch feuchtem Zustande²⁾ mit Wasser (100 ccm auf 33 ccm ursprünglichen Preßsaft) digeriert. Das Filtrat hiervon gab sowohl „Oxydase“- wie „Peroxydase“-Reaktion. Als wieder im Wasserbad einzelne Por-

1) Die Temperatur wurde durch ein in den Saft eingetauchtes Thermometer angezeigt!

2) Ein orientierender Versuch hatte die Schädlichkeit des Trocknens für das Eintreten der Reaktion gezeigt.

tionen auf resp. 50, 60, 70, 80 und 90° erwärmt wurden, wobei ein Niederschlag nicht entstand, blieb die „Oxydase“-Reaktion bis inkl. 80° ungeschädigt. Die „Peroxydase“-Reaktion überdauerte auch das Erhitzen auf 90° und selbst ein einmaliges Aufkochen, wobei schwache Trübung der Flüssigkeit eintrat.

Der filtrierte Preßsaft selbst wirkte auf Hydrochinon erst nach Zusatz von H_2O , oxydierend. Diese Wirkung verlor er aber beim Aufkochen sofort, also viel eher als die „Peroxydase“-Reaktion mit Guajaktinktur.

Der filtrierte rohe Preßsaft gab die „Oxydase“-Reaktion noch in einer Verdünnung von 1 : 100. Ebenso trat die „Peroxydase“-Reaktion noch deutlich ein, als kurz aufgekochter Preßsaft mit destilliertem Wasser im Verhältnis 1 : 100 verdünnt wurde.

Bei längerem Erhitzen auf 98—100° wird die „Peroxydase“-Reaktion des Preßsaftes allmählich vernichtet. Die oben angegebenen Grenzzahlen für die Wirksamkeit der Tabak-„Oxydase“ und -„Peroxydase“ gelten also nur für ganz kurze Dauer der Erhitzung, wie ja auch nach dem bereits Mitgeteilten die Konzentration der Lösung von Einfluß ist.

Das Letztere wird bestätigt durch einen Versuch mit Tabakblättern, die bei mäßiger Temperatur (25°) am Ofen schnell getrocknet waren, so daß sie ihre grüne Farbe bewahrt hatten. Ein Teil der Blattmasse, die in gepulvertem Zustande aufgehoben war, wurde mit 10 Teilen Wasser ausgezogen. Das Filtrat gab die „Oxydase“-Reaktion sehr schön, wenn auch nicht so gut wie der Preßsaft frischer Blätter (Versuch II), verlor diese Eigenschaft aber schon beim kurzen Erhitzen auf 70° C. Die „Peroxydase“ erwies sich auch hier als weit resistenter und wurde durch kurzes Aufkochen nur ein wenig geschwächt. Die Flüssigkeit ließ schon bei Erhitzen auf 60° einen reichlichen Niederschlag ausfallen, der bei weiterer Steigerung der Temperatur nicht vermehrt wurde, während die „Oxydase“-Reaktion eine Temperatur von 60° noch überdauerte.

Von einigem Interesse ist auch das Verhalten der beiden „Enzyme“ beim spontanen Faulen der Versuchsflüssigkeit. Die „Oxydase“-Reaktion war schon am 3. Tage nach der Herstellung des Blattauszuges, der von Bakterien wimmelte, verschwunden; dagegen war die „Peroxydase“ noch am 11. Tage nicht nur erhalten, sondern sogar äußerst kräftig wirksam. Dabei waren die Bakterien bereits zu Boden gefallen, und die stark nach Ammoniak riechende Flüssigkeit hatte sich bereits geklärt. Freilich könnte gegen die Annahme einer so großen Resistenz der Tabak-„Peroxydase“ der Einwand gemacht werden, daß die Reaktion in diesem Falle auf eine von den Bakterien erzeugte „Peroxydase“ zurückgeführt werden müsse. So unwahrscheinlich mir das Letztere erscheint, ist diese Ansicht doch nicht zu entkräften.

Jedenfalls aber geht aus den mitgeteilten Versuchen bereits hervor, wie verschieden die „Oxydasen“ und „Peroxydasen“ des Karlsruher Tabaks sich von denen des amerikanischen Tabaks verhalten. Die „Peroxydasen“ insbesondere weichen in ihrer Resistenz

gegen feuchte Wärme¹⁾ und in ihrer Löslichkeit in Alkohol so von Enzymen ab, daß ich ihre Enzymnatur dadurch für ausgeschlossen halte.

In dachreifem Tabak desselben Ursprungs war nur „Peroxydase“ und keine „Oxydase“ zu finden. Ebenso verhielten sich zwei Tabakproben, die während der Fermentation den Stöcken entnommen waren²⁾.

Bei einer dieser zum Teil bereits fermentierten Tabakproben wurde auch die Resistenz der „Peroxydase“ gegen kurze Erwärmung auf 100° bestimmt. Auch hier überstand die „Peroxydase“-Reaktion das kurze Aufkochen eines im Verhältnis von 1:10 gemachten wässerigen Extraktes ohne größere Schädigung.

Neuerdings hat Loew³⁾ einen weiteren Bestandteil des Tabakblattes als ein neues in Organismen allgemein vorkommendes Enzym vorläufig beschrieben. Dasselbe, eine „Katalase“, die aus H_2O_2 Sauerstoff abspaltet, soll beim Tabakblatt in Wasser un- oder schwerlöslich sein, da filtrierter Presssaft des frischen Blattes nur Spuren von Sauerstoff abspaltet, während unfiltrierter das reichlich thut. Auch diese Tabaks-„Katalase“ soll bei der Tabakfermentation eine Rolle spielen. Ohne auf die Spekulationen Loew's über die allgemeine Bedeutung der Katalasen für die Pflanzen und über ihre Individualität einzugehen, schließe ich kurz an, was ich über die wasserstoffsperoxydspaltende Wirkung des Tabaks, noch ohne Kenntnis der Abhandlung Loew's, zufällig beobachtet habe. Wurde das braune Filtrat von dem Extrakt des fermentierenden Tabaks mit H_2O_2 versetzt, so trat eine lebhafte Sauerstoffentwicklung (qualitativ geprüft) ein. Die „Katalase“ war in diesem Falle also löslich. Mit der „Peroxydase“ hat diese Eigenschaft des Extraktes nichts zu thun, da sie bereits durch kurzes Kochen, das die erstere nicht zerstört, völlig vernichtet wird. Im wässerigen Extrakt frischen Tabaks wurde die „Katalase“-Reaktion in Übereinstimmung mit Loew nicht beobachtet.

Nach den Ergebnissen der Untersuchung steht das Eine jedenfalls fest, daß die Tabak-„Oxydase“ keine Rolle bei der Fermentation des deutschen Tabaks spielt.

Loew hat für seine Ansicht von der Rolle der oxydierenden Bestandteile des Tabakblattes auch einen Beweis in positiver Richtung versucht⁴⁾, indem er ein „Peroxydase“-Präparat auf weinsaures Nikotin 2 Tage bei 50—60° C einwirken ließ. Als das Gemisch mit Kaliumkarbonat destilliert wurde, erhielt er im Destillat starke Ammoniakreaktion mit Neßler's Reagens. Er schließt daraus, daß Tabak-„Peroxydase“ Nikotin unter Ammoniakbildung

1) Ich sehe natürlich ab von so höchst problematischen Enzymen wie der Pektase, die allerdings die Tabak-„Peroxydase“ in der Resistenz gegen Siedehitze noch übertrifft.

2) Ich verdanke dieselben der Liebenswürdigkeit der Herren Hamerschlag, Direktors der K. Tabakmanufaktur in Straßburg, und Stadtrat Hirschhorn, Vorsitzenden des Tabakvereins Mannheim.

3) Science. 1900. Mai. — Mir nur aus Chem.-Ztg. 1900. No. 40. bekannt.

4) l. c. p. 31.

zu oxydieren vermag; doch verläuft die Reaktion äußerst träge. Nach Loew dürfte die „Oxydase“ indes energischer wirken. Daß Bakterien das Ammoniak aus Eiweißstoffen des „Peroxydase“-Präparats abgespalten hätten, hält Loew für vollständig ausgeschlossen¹⁾. Das angenommen, bleibt immer noch die Möglichkeit, daß das angewandte Alkalikarbonat Ammoniak aus den Eiweiß- oder eiweißähnlichen Stoffen abgespalten hat.

Es wurde aus den Tabakblättern des Versuches III durch Fällung des Wasserausguges mit 2 Volumen Alkohol ein Präparat bereitet, das „Oxydase“ und „Peroxydase“ enthielt. Als die Lösung mit Potasche gekocht wurde, blieb im Destillat die Ammoniakreaktion allerdings etwas zweifelhaft (ganz schwache Gelbfärbung); sie trat aber sehr deutlich und unzweifelhaft hervor, als eine Portion mit der äquivalenten Menge Kali erwärmt wurde; in diesem Falle war das Ammoniak sogar direkt durch Nebelbildung mit einem mit Essigsäure befeuchteten Glasstab nachzuweisen.

Ferner wurden in 2 große Kolben A und B gleiche Mengen der Lösung gebracht. Davon erhielt B einen Zusatz von einer ganz schwach sauer reagierenden Lösung von Nikotin und verdünnter Weinsäure, A einen solchen von dem gleichen Volumen destillierten Wassers. Die saurere Reaktion von B entspricht durchaus der des dachreifen Tabaks, den ich niemals alkalisch gefunden habe. Außerdem wurde der Inhalt beider Kolben mit Thymol versetzt und nun 192 Stunden bei 30° gehalten. Nach Ablauf dieser Zeit wurden beide Flüssigkeiten untersucht. Organismenentwicklung war in beiden ausgeblieben. In B war die „Oxydase“-Reaktion entschieden etwas geschwächt. Im übrigen waren beide gleich. Ammoniak ließ sich mit Neßler's Reagens in keiner der beiden Flüssigkeiten nachweisen. Als der Rest beider Flüssigkeiten mit Kali im Ueberschuß versetzt und in die Kolbenhälse je ein Streifen feuchtes, rotes Lackmuspapier gebracht war, trat nach einiger Zeit Bläuung der letzteren ein, die allmählich bis zu den oberen Enden der Streifen fortschritt. Aber sowohl Eintritt wie Gang der Bläuung war in beiden Kolben ganz gleichmäßig. Eine Ammoniakbildung aus Nikotin hatte also in meinem Versuche unter dem Einflusse der oxydierenden Tabakbestandteile nicht stattgefunden, und ich glaube nicht, daß man diesen Unterschied von den Ergebnissen Loew's auf den Temperaturunterschied zurückführen kann, da die eventuelle Hemmung der „Oxydase“-Wirkung durch die niedere Temperatur in meinem Versuche sicherlich mehr als ausgeglichen wird durch die längere Dauer desselben. Der Unfähigkeit der oxydierenden Bestandteile deutschen Tabaks, Nikotin anzugreifen, stelle ich die Thatsache gegenüber, daß eine mit Kreide und den nötigen anorganischen Nährsalzen versetzte Rohrzuckerlösung, die als einzige Stickstoffquelle schwefelsaures Nikotin (auf 100 ccm 0,5 g Nikotin) enthält, bei Zusatz einer Ackererdeaufschwemmung prompt in lebhafte Bak-

1) Loew, O., Sind Bakterien die Ursachen der Tabakfermentation? (Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. VI. 1900. p. 111.)

teriengärung übergeht, und daß dabei das Nikotin bis auf den letzten Rest von den sich entwickelnden Bakterien aufgezehrt wird.

Ich glaube, daß diese Gegenüberstellung durchaus geeignet ist, den Schluß zu stützen, daß, im Einklange mit den bisherigen Ansichten, die Abnahme des Nikotins während der Fermentation eine Folge der Thätigkeit von Organismen ist.

Einen schlagenden Beweis für oder gegen die Ansicht Loew's würde das Verhalten eines mit Chloroformwasser angefeuchteten und in einer chloroformhaltigen Atmosphäre gehaltenen Tabaks liefern. Da Chloroform, wie meine Versuche gezeigt haben, die Wirkung der Tabak-„Oxydasen“ auf Guajakol nicht verhindert, so müßte solcher Tabak sich erwärmen, wenn Loew's Ansicht richtig wäre. Mir ist es zur Zeit nicht möglich, einen derartigen, mit Hilfe des Cohn'schen Thermophors leicht anzustellenden Versuch zu machen, der die ganze Frage ohne weiteres entscheiden würde. Vielleicht wird von anderer Seite dieser Anregung Folge gegeben.

Loew stellt ferner in seiner ersten Schrift die These auf, daß bei einem Wassergehalt des Tabaks von 25 Proz. und darunter, wie er ihn in fermentierenden Deckblättern in Florida fand, eine Entwicklung von Organismen nicht möglich sei¹⁾. Neuerdings fixiert Loew sogar die Grenze der Bakterienentwicklung im Tabak für Temperaturen von 50–60° C auf einen Wassergehalt von 35 Proz. und darüber²⁾. Er weist darauf hin, daß ich selbst die untere Grenze des Wassergehaltes für das Gedeihen von *Botrytis* auf Tabak bei ca. 30 Proz. gefunden habe, und auf *Splendore*, der dieselbe für *Oospora Nicotianae* bei 26 Proz. bestimmte³⁾. Nun liegt aber letztere Grenze der von Loew früher angenommenen (25 Proz.) mindestens sehr nahe, und beide liegen unter 35 Proz., dem neuerdings für Temperaturen über 50° C angenommenen Minimum. Bei solchen Temperaturen gedeihen allerdings die beiden genannten Pilze nicht mehr, vielleicht aber andere Organismen, und daß „bekanntlich“ Bakterien noch größere Ansprüche an den Wassergehalt des Substrates machen als andere Pilze, ist, solange wir über die Ansprüche der Pilze überhaupt in dieser Beziehung so wenig wissen wie zur Zeit, eine wenig begründete Annahme.

Ein Versuch über den Wasserbedarf von Organismen im Tabak möge hier angeschlossen werden. 100 g im Mörser zerkleinerten dachreifen Tabaks von 8,23 Proz. Wassergehalt wurden mit 30,59 g Wasser innig gemischt und so ein Tabak von 25 Proz. Wassergehalt gewonnen. Von diesem kam ein Teil in eine unten mit einfach durchbohrtem, dicht schließendem Stopfen und über diesem durch Glaswolle abgeschlossene weite Glasröhre. Oben wurde der Tabak mit Glaswolle bedeckt und dann die Röhre wieder durch einen gut schließenden, einfach durchbohrten Stopfen verschlossen. Durch die Bohrung des unteren wie des oberen Stopfens gingen dicht

1) l. c. p. 21.

2) Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. VI. 1900. p. 111.

3) Ebenda. p. 109.

über resp. unter dem Stopfen endende engere Glasröhren, deren obere sehr lang war, zur Zu- resp. Ableitung von Luft. Beide Röhren wurden mit Wattestopfen versehen und die untere zunächst durch einen kurzen Kautschukschlauch mit Glasstab dicht verschlossen. Dann kam der Apparat zur Sterilisation in den Dampfkochtopf, wobei die obere lange Glasröhre mit ihrer Mündung weit aus dem Deckelloch des Dampfkochtopfes herausragte. In dieser Stellung wurde sterilisiert, so daß kein Wasserdampf in den Tabak eindringen konnte. Nach dem Erkalten wurde dann mit einem Tropfen einer wässerigen Aufschwemmung von fermentiertem Tabak infiziert und mittels sterilen Glasstabes möglichst gründlich gemischt. Ein Teil des Tabaks wird sofort in ein steriles Wägegöläschen übergefüllt, um die Keime zu zählen. Der Apparat wird im Thermostaten bei 30° unter ständiger Durchleitung von Luft, die vorher eine mit Wasser gefüllte Waschflasche passiert hatte, 17 Tage lang gehalten, worauf wieder eine Probe erhoben und gleichzeitig durch Wasserzusatz der Wassergehalt vermehrt wurde. Jetzt stand der Apparat 31 Tage bei gewöhnlicher Temperatur ohne Luftdurchleitung. Während vorher makroskopisch kein Wachstum in dem Tabak zu bemerken war, trat jetzt allmählich starke Schimmelbildung auf, verbunden mit einer mehr und mehr fortschreitenden Dunkelfärbung. Bei wiederholtem Umschütteln, wodurch die Pilzfäden zerrissen wurden und makroskopisch verschwanden, wurde beobachtet, daß mit zunehmender Dauer des Versuchs auch die Ueppigkeit der Regeneration des Schimmels größer wurde. Fruktifikation desselben ließ sich mit bloßem Auge nicht feststellen. Nach 31 Tagen wurde wieder eine Probe zur Zählung der Keime und zugleich zur Bestimmung des Wassergehaltes erhoben. Dabei wurde bemerkt, daß der Tabak den Geruch gewöhnlichen Schnupftabaks angenommen hatte. Die Keimzählung geschah durch Aufschwemmung eines durch Zurückwägen der Wägegöläschen bestimmten Teiles der Proben in 25 ccm Wasser und Zählung der auf einer Tabakabsudgelatine (Tabak: Wasser = 1 : 20; 10 Proz. Gelatine) bei Aussaat von resp. 1—0,5—0,02 ccm der Aufschwemmung am 5. Tage erhaltenen Kolonien.

Der anfängliche Keimgehalt war danach 29 Keime (ausschließlich Bakterien) pro Gramm des angewandten Tabaks (von 25 Proz. Wassergehalt). Bei der ersten Oeffnung nach 17 Tagen bei 30° war der Gehalt an Keimen auf 317 pro Gramm gewachsen. Unter ihnen befanden sich 105 Keime von *Penicillium* sp., deren Mutterkeime bei der ersten Zählung der Beobachtung entgangen waren. Bei Abschluß des Versuches war der Keimgehalt auf 8531 im Gramm gestiegen, obwohl der Wassergehalt nur auf 36,66 Proz. erhöht war. Unter den 8531 Keimen befanden sich nur 118 von Bakterien; alle anderen waren *Penicillium*. Also gerade als der Wassergehalt erhöht war, wucherte der Schimmelpilz am stärksten.

Der Versuch ist unvollkommen, beweist nichts für die Organismen der Fermentation, ist aber jedenfalls beweisend dafür, daß schon bei 25 Proz. Wassergehalt trotz nicht sehr günstiger Be-

dingungen eine Vermehrung von Bakterien im Tabak möglich ist. Es sind aber im Tabak im allgemeinen die Rippen noch wasserreicher. Während ich den Wassergehalt der Blattspreite fermentierenden Tabaks durch Trocknen bei 100° zu 25,22 Proz. bestimmte, betrug der Wassergehalt der zugehörigen Mittelrippe 32,74 Proz.¹⁾, und damit würden im fermentierenden Tabak immer auch Herde einer besonders intensiven Organismenentwicklung gegeben sein, von denen aus die wasserärmeren und an sich dem Gedeihen von Bakterien weniger günstigen angrenzenden und anliegenden Partien der Blätter beeinflußt und verändert werden könnten.

Loew hält ferner²⁾ dafür, daß die in den fermentierenden Deckblättern anzunehmenden Lösungen viel zu konzentriert seien, um Organismenentwicklung zu gestatten. Wenn indessen auf der Oberfläche der Tabakblätter Organismenkolonien auftreten, so steht diesen nicht eine hochkonzentrierte Lösung der Inhaltsbestandteile des Tabaksblattes, wie sie im Inneren der Zellen vielleicht vorhanden ist, zu Gebote, sondern nur die Imbibitionsflüssigkeit der Außenwände, die gewiß nur eine äußerst verdünnte Lösung der löslichen Bestandteile des Tabaksblattes ist. Ich halte es für wahrscheinlich, daß fermentierender Tabak überhaupt kein tropfbar flüssiges, sondern nur imbibiertes (Quellungs-)Wasser enthält. Es würden also starke Konzentrationen überhaupt nicht vorhanden sein. Daß Imbibitionswasser nur eine verdünnte Lösung ist, folgt aus nachstehendem Versuche: Gyps wurde mit Traubenmost, in dem auf 100 ccm 75 g Rohrzucker aufgelöst waren³⁾, angerührt (100 g gebrannter Gyps + 70 ccm Most). Platten wurden davon geformt und auf diese 1—2 mm dicke Flächenschnitte von Erbsenkotyledonen etwas eingepreßt. Nach dem Erstarren wurden die sehr bröckeligen Platten in tiefen Doppelschalen im Autoklaven sterilisiert und nach dem Erkalten sowohl einzelne Stellen der Gypsplatten wie die Erbsenschnitte mit einer Hefe geimpft (Oese aus einer vergorenen Mostkultur). Wachstum trat trotz der Dünne der Schnitte auf allen Schnitten ein, nicht aber auf dem Gyps selbst, auf dem selbst nach 4 Wochen nur einzelne ruhende Zellen auf den geimpften Stellen gefunden wurden. Erst als seitlich steriles Wasser zugesetzt wurde, so daß die Platte im Wasser stand, trat auch hier Wachstum und Gärung auf, die schnell die gesamte Flüssigkeit ergriff. Auf den Erbsenschnitten stand der Hefe eben nur eine verdünntere Lösung zur Verfügung, gewissermaßen ein Filtrat der überaus konzentrierten gesättigten Lösung, welche im Gypsblock anzunehmen war.

Loew macht in seinem Aufsätze in diesem Centralblatt⁴⁾ die Bemerkung: „Behrens freilich bezweifelt die Existenz der Oxydasen überhaupt, womit er freilich wenig Zustimmung finden

1) Behrens, Weitere Beiträge zur Kenntnis der Tabakpflanze. XII. (Die landw. Versuchsanstalten. Bd. LII. 1899. p. 223.)

2) Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. VI. 1900. p. 110. Anmerk.

3) Nach Laurent (Koch's Jahresbericht. I. 1890. p. 56) wächst Hefe in 60-proz. Zuckerlösungen nicht mehr.

4) A. a. O. p. 111.

dürfte.“ Der erste Teil dieses Satzes ist nun nicht ganz genau. Ich bezweifle keineswegs die Existenz von „Oxydasen“, d. h. von Körpern, welche die Oxydation anderer Stoffe fördern und diese Wirkung beim Erhitzen verlieren, sondern nur die Berechtigung derjenigen Ansicht, welche diese Körper oder Substanzgemenge zu den Enzymen rechnen will, ohne weiteren Beweis der Enzymnatur als bloß den einen, daß die oxydierende Wirksamkeit der Pflanzensäfte u. s. w. beim Kochen verschwindet, was übrigens nicht immer der Fall ist, wie aus dem Vorstehenden hervorgeht. Ich habe speziell an dem von Loew citierten Orte auf die bisherige mangelhafte Begründung der Auffassung der „Oxydasen“ als Enzyme hingewiesen, bin allerdings auch der Ansicht, daß bis zum Nachweis, daß es sich um eine eigenartige Klasse von Körpern handelt, die Schaffung eines neuen Terminus technicus unnötig ist. Ich habe mich bemüht, an der Hand der Litteratur die äußerst dürftige Begründung des Oxydasebegriffes festzustellen, und auf verschiedene Möglichkeiten aufmerksam gemacht, wie sich die angeblichen „Oxydase“-Reaktionen auch ohne Zuflucht zu oxydierenden Enzymen vielleicht verstehen lassen¹⁾. Ich vermisse bis jetzt noch den exakten Beweis für die Existenz von Enzymen, welche nicht hydrolytische, sondern Oxydationsreaktionen auslösen, und halte die Skepsis gegenüber den „Oxydasen“ bis zur Lieferung des Beweises für durchaus berechtigt. Nebenbei freue ich mich, konstatieren zu können, daß mein Standpunkt keineswegs ein einzelner ist. Oppenheimer²⁾ sagt ganz im Sinne meiner Ueberlegungen: „Man hat bei dieser Massenproduktion von Oxydasen etc., mit denen wir von französischen Biochemikern seit einigen Jahren beschenkt werden, das unerquickliche Gefühl, als ob ein großer Teil dieser ‚Enzyme‘ einer ersten Prüfung nicht standhalten würde, zumal da auch nicht ein einziges in angenähert reinem Zustande dargestellt ist.“ Kulisch kommt bei seinen Untersuchungen über das sogenannte Umschlagen (Braunwerden) der Rotweine zu dem Resultat: „Das Verhalten der Weine zeigt manche Aehnlichkeit mit den Erscheinungen, welche nach Angaben französischer Forscher durch ein Ferment, die Oxydase, hervorgerufen werden, welche sauerstoffübertragend wirken soll. Unzweifelhaft spielt auch bei den von mir untersuchten Weinen der Luftzutritt eine wesentliche Rolle, doch kann ich aus meinen Beobachtungen keinen zwingenden Beweis für das Vorhandensein eines Ferments entnehmen. Die Erscheinungen . . . lassen sich ungezwungen auch ohne Annahme einer Fermentwirkung erklären³⁾.“

Sehr lehrreich mit Bezug auf den Wert der Guajak tinktur als Reagens auf Oxydationsmittel ist eine Mitteilung Bretenu's⁴⁾,

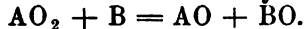
1) Beiträge zur Kenntnis der Obstfäulnis. (Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. IV. 1898. p. 742 ff. u. p. 770 ff. Sep. p. 41—49.)

2) Die Fermente und ihre Wirkungen. Leipzig 1900. p. 302.

3) Bericht der kgl. Lehranstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. für das Étatsjahr 1897/98. p. 106.

4) Journ. de Pharm. et de Chim. [6]. T. VII. p. 569; Ref. Chem. Centralbl. Bd. II. 1897. p. 382.

der nachweist, daß unter Umständen ein so indifferenten Körper wie Papier entscheidend beim Zustandekommen der Reaktion mitwirkt. In meinem Skepticismus gegenüber der Auffassung der sogenannten „Oxydase“ als oxydierender Enzyme werde ich auch durch die Ergebnisse der Untersuchungen von Engler und Weisberg¹⁾ und von Manchot²⁾ bestärkt. Erstere finden, daß verschiedene autoxydable Körper (Terpentin u. a.) zunächst Superoxyde bilden, und daß sekundär letztere einen Teil ihres Sauerstoffs an weitere Molekeln des Körpers abgeben. Die Molekel A des autoxydablen Körpers lagert O_2 an, und das entstandene AO_2 wirkt weiter auf die Molekel B des autoxydablen Körpers:



Andererseits zeigt Manchot, daß bei anderen Autoxydationen (in wässriger Lösung) stets Wasserstoffsperoxyd gebildet wird, indem $1/2$ des aufgenommenen Sauerstoffs zur Wasserxydation verwendet wird. Durch das Wasserstoffsperoxyd kann das erste Autoxydationsprodukt unter Umständen weiter angegriffen werden. Nichts steht bis jetzt im Wege, die Aktion der sogenannten „Oxydase“ gegen Hydrochinon u. a. analog zu erklären derart, daß „Oxydase“ wie Hydrochinon etc. gleichzeitig zerstört werden, daß ein zunächst entstandenes „Oxydase“-Peroxyd sekundär das Hydrochinon etc. oxydiert u. s. f. Dabei würde aber die „Oxydase“ selbst zerstört werden. Selbst die Frage nach dem Schicksal der „Oxydase“ bei der Oxydation ist bis heute noch nicht beantwortet, obgleich dieses Schicksal für die Auffassung der „Oxydase“ als Enzym gewiß keineswegs gleichgiltig, die Erhaltung vielmehr erste Bedingung ist.

Was die „Peroxydase“ betrifft, so ist z. B. Raciborski³⁾ geneigt, seinem Leptomin (Peroxydase) eine dem tierischen Hämoglobin und Hämocyanin analoge Rolle zuzuweisen und eine Sauerstoffübertragung durch dasselbe derart anzunehmen, daß das Leptomin zunächst Sauerstoff anlagert, und dann das entstandene Oxyleptomin diesen Sauerstoff an die Guajakonsäure resp. andere oxydable Körper abgibt, worauf das regenerierte Leptomin wieder Sauerstoff anlagert, u. s. w. Es ist aber bisher noch niemandem eingefallen, das Hämoglobin, von dem dieses Verhalten längst bekannt ist, zu den Enzymen zu rechnen.

Ich sehe also zunächst keinen Grund, von meiner skeptischen Stellung gegenüber der Frage von der Existenz oxydierender Enzyme abzugehen. Nur noch ein Wort über die Rolle, welche Loew hypothetisch den oxydierenden Enzymen beim Rotten der Kakaobohnen zuschreibt, deren bitteres Prinzip durch Oxydation zerstört werden soll⁴⁾. Nach den Untersuchungen von Lazarus⁵⁾

1) Engler und Weisberg, Ueber Aktivierung von Sauerstoff. II und III. (B. B. Bd. XXXI. p. 3046 u. 3055.)

2) Manchot, Ueber freiwillige Oxydation. Beiträge zur Kenntnis der Autoxydation und Sauerstoffaktivierung. Leipzig 1900.

3) Raciborski, M., Ein Inhaltskörper des Leptoms. (Berichte d. dtsh. bot. Ges. Bd. XVI. 1898. p. 52 ff.)

4) Curing and fermentation of cigar leaf tobacco. p. 33.

5) Das Glykosid der Kakaosamen. Düsseldorf 1893.

und Schweitzer¹⁾ erscheint es mir als viel wahrscheinlicher, daß der Zweck des „Rottens“ oder der Fermentation des Kakaos die hydrolytische Spaltung des Kakaonins in Zucker, Kakaorot und Theobromin durch das in den Samen enthaltene zugehörige Enzym ist. Das Glykosid Kakaonin dürfte auch das bittere Prinzip sein. Ueber die Olease Tolomei's scheint mir das letzte Wort noch nicht gesprochen zu sein. Ich rechne auch diesen Körper zunächst zu den oxydierenden „Enzymen“, bei denen Oppenheimer's oben citiertes Urteil zutrifft.

Die Folgerungen aus den vorstehend mitgeteilten Beobachtungen und Ueberlegungen möchte ich schließlich in folgenden Sätzen zusammenfassen:

1) Die Deutung der durch (pflanzliche) sogenannte Oxydasen hervorgerufenen Oxydationen als enzymatische Prozesse, der Oxydasen selbst als Enzyme ist äußerst prekär und wenig begründet.

2) Die sogenannten Oxydasen und Peroxydasen des deutschen Tabaks verhalten sich gegenüber Wärme und Alkohol sowie bei der Dachreife und Fermentation ganz verschieden von den entsprechenden Bestandteilen der von Loew untersuchten amerikanischen Tabake.

3) Eine Oxydase kann unmöglich das Agens bei der Fermentation des deutschen Tabaks sein, da sie bereits während des Trocknens am Dach verschwindet.

4) Die oxydierenden Bestandteile deutschen Tabaks sind wirkungslos gegenüber Nikotin, das dagegen von gewissen Erdkakterien als Stickstoffquelle gut verwertet wird.

5) Auch in einem Tabak von nur 25 Proz. Wassergehalt ist noch eine Organismenentwicklung möglich.

Die drei letzten Sätze machen die ursächliche Beteiligung von Mikroorganismen irgendwelcher Art an der Fermentation des deutschen Tabaks zweifellos. Eine Durchlöcherung der Blätter, eine Zerstörung der Konsistenz, wie Loew sie bei Bakteriengärung für unvermeidlich hält, findet dabei aber keineswegs statt.

Weinsberg, 27. August 1900.

Nachdruck verboten.

Bacillus carotovorus n. sp., die Ursache einer weichen Fäulnis der Möhre.

Von **L. R. Jones,**

Professor der Botanik an der Universität von Vermont²⁾.

I. Vorkommen und Beschaffenheit der Krankheit.

Vorkommen. Im Dezember 1898 erhielt ich Exemplare von faulenden Möhrenwurzeln aus Hardwick, Vermont, mit

1) Pharm. Ztg. 1898. p. 380

2) Diese Arbeit ist ein Auszug aus einem mehr eingehenden, illustrierten Aufsatz, welcher einen Teil des Berichtes des Botanikers in dem bald erscheinenden

der Angabe des Absenders, er habe zwei Jahre nach einander seine ganze Möhrenernte an einer solchen Fäule verloren. Weitere Nachfrage ergab folgende Einzelheiten: Als er im Herbst 1897 seine Möhren einerntete, fand er, daß einige Wurzeln verdorben waren. Bei der Aufbewahrung in seinem Wurzelkeller entwickelte sich die Fäulnis so schnell, daß er gezwungen war, die Möhren alle im Herbst und Wintersanfang zu verbrauchen. Der Dünger der so gefütterten Tiere wurde gedankenloser Weise auf das Feld geführt, wo im Jahre 1898 Möhren gepflanzt wurden. Der Erfolg des Jahres 1898 war noch entmutigender als der des Jahres 1897. Die Fäulnis zerstörte seine ganze Ernte sogleich nach der Aufbewahrung.

Eigenschaften. In allen Fällen zeigten diese Möhren schnell fortschreitende weiche Fäulnis, die gewöhnlich an der Krone anfang und sehr schnell durch das Innere fortschritt. Der ergriffene Teil war sehr weich und etwas gebräunt. Zwischen dem gesunden und dem erkrankten Gewebe befand sich eine scharfe Trennungslinie.

Die mikroskopische Untersuchung zeigte, daß die kranken Gewebe keine Mycelpilze enthielten, sondern Schwärme sich lebhaft bewegender Bakterien. Plattenkulturen von kürzlich ergriffenen Teilen zeigten die Gegenwart eines stabförmigen Organismus fast in Reinkultur. Wenn gesunde Möhren mit reinen Fleischbrühekulturen dieses Organismus geimpft wurden, zeigte sich bald weiche Fäulnis, welche in jeder Hinsicht der Krankheit der uns zugesendeten Möhren ähnelte. Plattenkulturen von solchen Wurzeln zeigten den ursprünglichen Organismus in reiner oder fast reiner Kultur. Solche Experimente sind viele Male mit demselben Erfolg wiederholt worden und erlauben keinen Zweifel daran, daß dieser Organismus die unmittelbare Ursache der Krankheit ist. Spätere Impfungen zeigten seine Fähigkeit, an verschiedenen anderen Vegetabilien ähnliche Zerstörungen hervorzubringen. Wie man aus später anzuführenden Thatsachen sehen wird, ähnelt seine pathologische Wirkung der von Heinz's¹⁾ weißer Fäulnis der Hyazinthen und der weißen Fäulnis der weißen Rübe von Potter²⁾.

Der Potter'sche Organismus der Rübefäulnis unterscheidet sich von dem der Möhre im Bau dadurch, daß er ein einziges polares Flagellum besitzt (Pseudomonas). Heinz's Hyazinthenorganismus ist von beiden dadurch unterschieden, daß er Gelatine nicht verflüssigt. Wahrscheinlich werden weitere Studien über die bakterielle Weichfäule von Vegetabilien zu der Entdeckung vieler

den dreizehnten Jahresberichte der Vermont Agricultural Experiment Station bilden wird. Dieser Bericht wird auf Verlangen von dem Verfasser, Burlington, Vt., U. S. A. den Bakteriologen zugesendet werden.

Die meisten Studien, auf welche dieser Artikel gegründet ist, wurden in dem Laboratorium von Dr. Erwin F. Smith, Pathologen der Abteilung für vegetabilische Physiologie und Pathologie, U. S. Dept. Agric., Washington, gemacht, und der Verfasser ist dem Dr. Smith und den anderen Beamten dieser Abteilung für zahlreiche Freundlichkeiten und wertvolle Ratschläge zu vielem Danke verpflichtet.

1) Heinz, A., Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. Bd. V. 1889. p. 535—539.

2) Potter, On a bacterial disease — white rot of the turnip. (Proc. Durham Philos. Soc. (England) Nov., 1899.)

ähnlicher Organismen führen, von denen jeder fähig ist, eine größere Reihe von Wirtspflanzen zu befallen. Es ist sicherlich von Wichtigkeit, sowohl vom Gesichtspunkt der abstrakten Bakteriologie, als von dem der Pflanzenpathologie aus, daß sie vollständig bekannt werden, und die folgenden Studien sollen einen Beitrag in dieser Richtung liefern.

II. Pathogenese des Organismus.

1) Pathologische Histologie. Die mikroskopische Untersuchung des faulenden Möhrengewebes hat gezeigt, daß der Organismus in die Interzellularräume eindringt und sich darin mit ungeheurer Schnelligkeit vermehrt. Die mittleren Lamellen der anliegenden Zellen erscheinen erweicht oder zerstört durch die Ausscheidung von Extrakten der Bakterien, denn in ergriffenen Geweben findet Isolierung der Zellen statt, ganz wie beim Holzgewebe, das in der Schulz e'schen Lösung maceriert wird. Das Protoplasma in solchen isolierten Zellen ist zusammengefallen, aber man hat keine Bakterien in den Zellen von frisch desorganisiertem Gewebe bemerkt. Diese Zerstörung der Interzellulärsubstanz rührt wahrscheinlich von einem Enzym von der Natur der Cytase her, das von den Bakterien abgesondert wird, ähnlich dem von Potter bei seinem Organismus der Rübenfäule nachgewiesenen. Meine eigenen Studien über diese Fermentwirkung sind jedoch noch nicht so weit gediehen, daß ich entschiedene Angaben machen könnte.

2) Pathologie bei verschiedenen Pflanzen. Inokulationen in Wunden haben gezeigt, daß der Organismus fähig ist, in einer beträchtlichen Anzahl und Varietäten von anderen Pflanzengeweben Weichfäule ähnlich der der Möhre hervorzubringen. Wo es nicht anders angegeben wird, wurden die folgenden pathologischen Studien während des Winters ausgeführt und die benutzten Vegetabilien wurden in allen Fällen frisch den Vorratsräumen entnommen. Die Wurzeln von weißen Rüben, Rutabaga und Rettigen zeigten sich ungefähr ebenso aufnahmefähig für die Fäule wie Möhren. Pastinaken und Bocksbart wurden schnell ergriffen, wenn die Gewebe hinreichend feucht waren, aber auf Inokulation in teilweis verwelktes oder trockenes, schwammiges Gewebe folgte nicht immer Zerfall. Die Schalen reifer Zwiebeln wurden schnell ergriffen, desgleichen die Schalen von frischen jungen Tafelzwiebeln. Junge Blattstiele von Sellerie zerfielen schnell nach der Impfung. Inokulationen in Blätter von Topfhyazinthen, die sich unter einer Glasglocke befanden, führten zu deren Zerfall, dagegen gewöhnlich nicht, wenn die Pflanzen nicht bedeckt waren. Impfungen in jüngere, mehr wässerige Gewebe der Hyazinthe an der Basis des Blattes oder des Blütenstengels verursachten ihre Zerstörung, selbst wenn die Pflanze unbedeckt in der trockenen Luft des Laboratoriums stand. Bei dem Kohl waren die Resultate verschieden. Impfungen in die dünneren Teile der Blätter des Kohlkopfs haben selten Zerfall verursacht, aber wenn sie in die fleischige Mittelrippe oder in den Stamm gemacht wurden, folgte Zerfall, ähnlich der gewöhnlichen weißen Weichfäule des Kohls. Die überraschendsten Resultate gab

die Schnelligkeit der Zerstörung nach Impfung von Tomatenfrüchten. Unreife Tomaten in allen Stadien der Entwicklung waren sehr empfänglich, noch mehr als die reifen Früchte. Man machte Versuche mit abgeschnittenen Früchten und auch mit solchen, die sich noch an der Mutterpflanze befanden. Die Versuche wurden an Pflanzen angestellt, die im April im Gewächshause und mit solchen, die im August im Freien wuchsen. In beiden Fällen folgte schnell Weichfäule der geimpften Frucht. Aehnlicher Zerfall folgte auf die Inokulation von Früchten des roten Pfeffers, schneller an grünen als an reifen Früchten und auch auf Impfungen der Früchte der Eierpflanze. Kein Zerfall zeigte sich nach Inokulationen folgender reifen Früchte und Vegetabilien: Orangen, Bananen, Aepfel, Birnen, Blumenkohl, Kartoffeln, süsse Bataten, Runkelrüben. Negatives Resultat gaben auch Impfungen der Wurzeln und Blätter von jungen, vier Wochen alten Pflanzen von Möhren und Pastinaken und der Stämme und Blattstiele von Tomatenpflanzen. Alle diese Impfungen wurden mit Reinkulturen ausgeführt.

3) Methoden der Inokulationen. Infektion von Wunden scheint wesentlich zu sein. Bei vielen Versuchen an verschiedenen Pflanzen wurden Tropfen von Fleischbrühekultur oder anderem infektiösem Material auf die unverletzte Epidermis gebracht, aber in keinem Falle folgte Zerfall. Verschiedene Impfmethode sind versucht worden und gewöhnlich wurden die Versuche an derselben Pflanzenart auf verschiedene Weise wiederholt. Die Sterilisierung der Oberfläche der zur Inokulation bestimmten Wurzeln oder Früchte wurde gewöhnlich durch Waschen mit destilliertem Wasser, dann 20 Minuten langes Eintauchen in eine 0,1-proz. Sublimatlösung und Abspülen mit sterilem Wasser ausgeführt. Zahlreiche Versuche haben gezeigt, daß diese Vorsicht kaum nötig ist; indessen wenn nicht desinfizierte Wurzeln verwundet und die Wunden mit sterilem Wasser befeuchtet wurden, folgte in keinem Falle Zerfall durch Bakterien. In einigen Fällen wurde die Sterilisierung der Oberfläche durch Hitze bewirkt, aber dies wurde als verwerflich betrachtet, weil dabei einige der oberflächlichen Zellen zu Grunde gingen. Inokulationen wurden ausgeführt, indem man mit der Spitze eines kalten, sterilen Skalpells eine Oeffnung machte und in diese einen Tropfen einer flüssigen Kultur des Organismus einbrachte, gewöhnlich eine Menge, die mit einer Oese von 2 mm weggenommen werden konnte. Wie schon angegeben, wurden diese Impfungen meistens während des Winters ausgeführt. Nach der Inokulation wurden die Wurzeln und Früchte, wenn nicht anders angegeben wird, in der Temperatur des Laboratoriums (19--23° C) gehalten. Sie wurden gewöhnlich in einem hinreichend feuchten Zimmer aufbewahrt, um Welken zu verhüten. In mehreren Fällen wurden Möhren, Tomaten, Pfeffer und Zwiebeln bei niedrigerer Temperatur (15--18° C) gehalten. Der Zerfall erfolgte bei dieser wie bei der höheren Temperatur, schritt aber nur ungefähr halb so schnell fort.

4) Charakteristik des Zerfalls. In allen Fällen bestand er in einer schnell vorwärts schreitenden Weichfäule. Seine

Schnelligkeit änderte sich natürlich mit der Temperatur. An Möhren zeigte sich bei 20—22° C in der unmittelbaren Nähe der Wunde binnen 24 Stunden ein mit Wasser durchtränktes Aussehen. Diese Stelle konnte sich binnen 3 Tagen zu einer Fläche von 1 cm Durchmesser erweitern, und 1—3 Wochen genügten gewöhnlich zum Ergriffensein der ganzen Wurzel. Die Schnelligkeit des Zerfalls verschiedener Wurzeln und Gewebe hing wesentlich von ihrem verschiedenen Wassergehalte ab; je wässriger die Gewebe waren, desto schneller wurden sie ergriffen. Das Eindringen war gewöhnlich von der Ausschwitzung einer grauweißen, von Bakterien schwärmenden Flüssigkeit aus der Wunde begleitet. In Möhren zeigte sich gewöhnlich braune Entfärbung der inneren Gewebe. Dies wechselte jedoch je nach der Varietät; in Wurzeln von der „halblangen Orangeart“ war es am meisten ausgesprochen, weniger deutlich an den „lang-orange“ Wurzeln. Diese Bräunung war offenbar ein Oxydationsprozeß, und ihr verschiedenes Auftreten wurde entsprechenden Variationen in dem oxydierbaren Chromogen zugeschrieben, das sich in den verschiedenen Wurzeln findet. An Kulturen auf gekochten Möhren fand kein Farbenwechsel statt, daher wurde die Oxydation dieses Chromogens Oxydasen zugeschrieben, die normalerweise in ungekochten Möhren vorhanden sind und sich nicht durch den Organismus entwickelten.

Im Allgemeinen waren die Charaktere des Zerfalls in anderen Pflanzen denen der Möhrenwurzel ähnlich. Die Schnelligkeit des Eindringens schien in allen Fällen bedeutend von ihrem Wassergehalt abzuhängen. Grüne Tomaten von 7 cm Durchmesser, die im Garten oder im Gewächshause an der Pflanze hingen, wurden oft in einer Woche in eine breiige Masse verwandelt. In weißen Rüben und Rettigen erfolgte das Eindringen ebenso schnell wie in der Möhre, unter Verwandlung der ergriffenen Gewebe in eine weiche, pulpöse Masse, aber ohne Entfärbung. Bei 20—22° C schritt der Zerfall bei weißen Rüben oft um 1 cm oder mehr täglich fort. In Kohlstielen war er von ähnlicher Beschaffenheit, aber etwas langsamer. In allen Fällen, mit Ausnahme der Möhre, war der Zerfall von der „weiße Fäulnis“ genannten Art, das heißt, es fand sich kein anderer deutlicher Farbenwechsel an den zerfallenden Geweben, bis auf das Aussehen von Durchtränkung mit Wasser.

Besonders starke oder charakteristische Gerüche wurden nicht entwickelt, außer bei Cruciferen und Zwiebeln, deren Geruch entschieden widerwärtig war, und bei Sellerie, der einen unangenehm süßlichen Geruch von sich gab.

III. Morphologische Charaktere des Organismus.

1) Gestalt. Ein Bacillus mit abgerundeten Enden, in älteren Kulturen einzeln oder selten paarweis vorkommend. In jungen, flüssigen (1—3 Tage alten) Kulturen sieht man häufig Ketten von mehreren Zellen und Filamente von 25—50 μ , bisweilen 100—200 μ und größerer Länge. Die beste Entwicklung von Filamenten wurde in Kulturen in Möhrenbrühe beobachtet, die 24 Stunden oder weniger alt waren.

2) Größe. Durchmesser $0,7 \mu$ bis $0,8 \mu$ (Extreme $0,6 \mu$ bis $0,9 \mu$) in 24 Stunden alten Agar oder Brühekulturen, bei $20-24^{\circ} \text{C}$., gefärbt mit kaltem, wässrigem Fuchsin. 20-tägige Agarkulturen lieferten Durchschnittsmaße von $0,6 \mu$ bis $0,7 \mu$.

Die Länge getrennter Stäbchen variiert von $1,5 \mu$ bis $5,0 \mu$, im Durchschnitt $2,8 \mu$ in 24 Stunden alten Agar- oder Brühekulturen bei $20-24^{\circ} \text{C}$, gefärbt mit kaltem, wässrigem Fuchsin, 20 Tage alte Agarkulturen lieferten Stäbchen von $1,5 \mu$ bis 3μ Länge. Zahlreiche, an lebenden Organismen gemachte Messungen unterscheiden sich nicht wesentlich von den obigen.

3) Gruppierung. Außer der Bildung von Ketten und Filamenten, wie angegeben, haben Kulturen in Brühe und anderen flüssigen Nährböden eine Neigung zur Bildung von Zoogloeamassen von 25μ oder mehr Durchmesser. Dem bloßen Auge als Häutchen usw. sichtbare Anhäufungen wurden in flüssigen Kulturböden selten beobachtet.

4) Färbung. Der Bacillus färbt sich ziemlich langsam in kalten, wässrigen Anilinlösungen, 5—10 Minuten sind z. B. zu einer guten, tiefen Färbung nötig. Karbolfuchsin färbt schnell; Loeffler's Methyleneblau liefert in 5 Minuten eine gute Färbung; der Organismus hält nach Gram's Methode die Färbung fest.

5) Kapsel. Wurde nicht nachgewiesen.

6) Geißeln, Beweglichkeit. Aktive Bewegung findet sich in Rindfleischbouillon oder vegetabilischen Brühen und anderen flüssigen Kulturmitteln während der ersten Tage des Wachstums bei $20-30^{\circ} \text{C}$, aber ältere Kulturen sind weniger beweglich. In frisch ergriffenem Möhrengewebe waren die Organismen sehr lebhaft. Die Bewegungen einzelner Stäbchen sind gewöhnlich vibratorisch, obgleich in kräftigen, jungen Kulturen direkte oder vordringende Bewegungen häufig sind. Viele von den Ketten oder Filamenten zeigen lebhaft, vibratorische oder schlängelnde Bewegung.

Versuche, die Flagella in jungen (24-stündigen) Agarkulturen nach van Ermengem's Methode zu färben, gaben ein ziemlich ungenügendes Resultat. Ausgezeichnete Färbungen erschienen nach Löwit's Methode in 20 Stunden alten Möhrenbrühekulturen. Diese Färbungen zeigten, daß die Stäbchen mehrere (2—5) periphere Flagella besitzen. Ihre Länge betrug in Agarkulturen 6μ oder weniger, in der Möhrenbrühe waren sie länger, 10μ oder mehr.

7) Sporen. Von Sporenbildung hat sich kein Anzeichen gefunden. Es wurden eifrige mikroskopische Nachsuchungen in vielen Kulturen, bei verschiedenem Alter und in mancherlei Nährmitteln angestellt. Auch die Erwärmungsprobe wurde mit zahlreichen Kulturen durch zehn Minuten langes Erwärmen auf $55-75^{\circ} \text{C}$ gemacht. Jede so erwärmte Röhre wurde sterilisiert.

8) Involutionsformen. Pleomorphismus ist selten beobachtet worden. In verschiedenen, zwei Monate alten Kulturen (Röhren mit gedämpften Möhren) hatten viele Stäbchen ovale, lichtbrechende Stellen im Innern, die stark an Sporen erinnerten. Diese nahmen Sporenfärbungen nicht an und wurden durch 10 Minuten

dauernde Erwärmung auf 75 ° C getötet. Daher wurden sie für Vakuolen gehalten. Aehnliche, leicht angeschwollene Stellen in den die Stäbchen einnehmende Vakuolen wurden in einigen jungen Agarkulturen beobachtet. Diese Stäbchen waren oft in sehr lebhafter Bewegung, und die sie enthaltenden Kulturen wurden durch 10 Minuten langes Erwärmen auf 55 ° C. getötet.

IV. Physiologische Eigenschaften des Organismus.

A. Kulturelle Charaktere auf verschiedenen Kulturböden¹⁾.

1) Nährbrühe aus Rindfleisch. Schnelles Wachstum fand statt in Brühen, die zwischen neutral und + 2,0 Proz. in der Reaktion lagen, aber neutrale Brühe war günstiger. Z. B. zeigte neutrale, mit einer 1 mm-Oese inokulierte Brühe bei 28 ° C Trübung nach 6 Stunden. Diese nahm in Brutröhren mehrere Tage lang langsam zu, bis die Kultur halbopak wurde, worauf sie mit geringer Aenderung eine unbestimmte Zeit lang so blieb; nach 3 Monaten waren die Röhren noch gut getrübt. Gewöhnlich zeigte sich kein Häutchen und kein dauernder Rand, aber wenn die Röhren einige Tage ganz ungestört standen, entwickelte sich bisweilen ein zartes, unvollständiges, weißes Häutchen und ein schwacher Rand. In diesem Falle wurden sie durch geringe Störung zerstreut. Ein geringer, weißgrauer Niederschlag sammelte sich auf dem Boden der Kulturröhren und betrug in 3 Monaten nicht weniger als 1 Proz. von dem Volumen des Kulturmittels. Die Reaktion der Fleischbrühekulturen war ursprünglich für Lackmuspapier schwach alkalisch (+ 1,5 Proz.) und wurde dann am 2. Tage schwach sauer; so blieb sie ungefähr 2 Wochen lang, worauf die Alkalinität wieder vorherrschend wurde und dann fortbestand. Einen Monat alte Kulturen zeigten beim Titrieren eine Alkalinität von — 1,0 Proz.

2) Gelatine (Reaktion + 1,5 bis + 2 Proz., Temperatur 18—22 ° C). Der Bacillus verflüssigt Gelatine schnell. In Plattenkulturen begrabene Kolonien, 125mal vergrößert, waren zuerst kreisförmig, gleichförmig körnig, mit scharf begrenzten Rändern. Gewöhnlich ging diese Schärfe der Umrisse bald verloren durch das Wachstum in die umgebende Gelatine und deren Verflüssigung, und binnen wenigen Stunden erreichte die Kolonie die Oberfläche. Kolonien, die nach 2 oder 3 Tagen die Oberfläche nicht erreichten, zeigten konzentrische Zonen mit einem strahlenartigen, fransenartigen Auswuchs von dem Rande wie bei oberflächlichen Kolonien.

1) Alle Kulturböden wurden mit größter Sorgfalt zubereitet unter genauer Befolgung der Ratschläge der bakteriologischen Kommission der American Public Health Association, vorgelegt in der Zusammenkunft zu Philadelphia 1899.

Die Brühe wurde aus magerem Rindfleisch bereitet mit Witte's Peptonum siccum. Die Reaktionen wurden durch Phenolphthalein bestimmt, die Säure durch Natrium-Hydroxyd reduziert. Die Reaktionen sind ausgedrückt durch die Prozente von Normal-Alkali oder die Säure, welche nötig ist, um das Nährmittel zur Neutralität zu reduzieren, für Phenolphthalein. Mit + bezeichnete Kulturen sind sauer, mit — bezeichnete alkalisch für Phenolphthalein.

Oberflächenkolonien waren weiß und bei 125facher Vergrößerung gleichmäßig körnig mit ganzen Rändern während der ersten Stunden, aber bald verflüssigten sie die Gelatine und bildeten eine trichterförmige Vertiefung, auf deren Grund sich ein grauweißer Niederschlag zeigte. Wenn dieser sich in ältere Kolonien tiefer einsenkte, umgab er sich mit abgelösten, unregelmäßigen, lockeren Massen. Unterdessen entwickelte sich am Rande der Kolonie ein gewimperter, fransenartiger Auswuchs von ungefähr 50 μ Breite.

In Stichkulturen trat Wachstum längs des ganzen Weges der Nadel ein, nahm aber nach der Tiefe zu ab. Bei 20° C bildete die Verflüssigung in 24 Stunden eine napfartige Vertiefung von 3 mm Durchmesser und 1 mm Tiefe. Der Prozeß dehnte sich sehr schnell nach den Seiten aus, so daß am 3. Tage die Verflüssigung über die ganze Oberfläche der Röhre hinweg reichte und eine ungefähr 3 mm tiefe flüssige Schicht bildete. Unterhalb dieser Schicht schritt die Verflüssigung bei zunehmender Tiefe allmählich langsamer vorwärts. In den früheren Stadien waren längs dem Stich bei 15maliger Vergrößerung gewimperte Auswüchse sichtbar. Ein flockiger Niederschlag bildete sich in der Tiefe des Trichters am 2. Tage und nahm später zu; auf dem Boden der verflüssigten Röhre erschien ein 2- oder 3mal voluminöserer Niederschlag als in der Rindfleischbrühe. Wenn man verflüssigte Röhren ungestört ließ, bildeten sie ein zartes, unvollkommenes, zerbrechliches, weißes Häutchen. 40 Tage alte Röhren reagierten stark alkalisch auf Lackmuspapier.

In 5- und 10-proz. Rohrzuckergelatine bei 16—22° C 7 Tage lang gehaltene Stichkulturen zeigten langsames Wachstum und geringe Verflüssigung an der Oberfläche.

In ähnlicher Traubenzuckergelatine erschien nur geringes Wachstum und keine Verflüssigung.

3) Agar (Reaktion + 1,5 Proz.). Begrabene Kolonien, weiß, gewöhnlich länglich oder spindelförmig, mit unregelmäßigen Rändern, bei 125maliger Vergrößerung betrachtet.

Oberflächenkolonien, 1—2 Tage alt, rund, weißgrau, leicht erhaben, eben, naß aussehend. Bei 10—15facher Lupenvergrößerung erschienen 24—48 Stunden alte Kolonien bei durchfallendem Lichte fluoreszierend und zeigten deutliche eckige, weiße Flecken oder Felder, offenbar von der Bildung eines zarten Häutchens an der Oberfläche der Kolonie herrührend, das dann durch das Wachstum zerrissen wurde. Dieses Aussehen war vorübergehend und nach dem 2. oder 3. Tage waren alle Kolonien gleichmäßig körnig.

Bei 125maliger Vergrößerung waren die Ränder scharf begrenzt und 2 oder 3 Tage lang ganz oder im einzelnen eingekerbt, verloren aber ihre scharfe Begrenzung mit dem Alter.

Es fand keine Entfärbung des Agars statt. Zahlreiche kleine Kristalle (phosphorsaures Ammoniak?) erschienen in 4 Wochen alten Plattenkulturen in den Agar eingebettet.

Strichkulturen auf Agar zeigten dieselbe allgemeine Beschaffen-

heit wie die Oberflächenkolonien, nämlich dünnes, weißes, halbdurchsichtiges, leicht erhabenes, naß aussehendes Wachstum mit ganzen oder unregelmäßig gekerbten Rändern, in früheren Stadien leicht fluoreszierend, ohne Neigung, in den Agar hineinzuwachsen, dichte Trübung und beträchtlichen Niederschlag in dem Kondensationswasser.

Stichkulturen in Agar. Oberflächenwachstum wie in Kolonien. Längs dem Stichkanal ist das Wachstum zusammenhängend, nimmt aber mit der Tiefe ab. Keine seitlichen Auswüchse. Gasblasen wurden bisweilen, aber selten, in einfachen Agarstichkulturen beobachtet.

Kulturen wurden auf Agar gemacht, das 5-proz. Zugaben von folgenden Kohlehydraten enthielt: Rohrzucker, Traubenzucker, Milchzucker, Mannit, Glycerin (Reaktionen + 1,5 Proz.).

In allen Fällen wurde das frühzeitige Wachstum durch solche Zugaben verzögert. Bei dem Traubenzucker war diese Verzögerung so stark, daß kräftige und bisweilen wiederholte Impfung nötig war, um eine Kolonie zum Wachsen zu bringen. Im Milchzucker war die Wirkung ähnlich, aber weniger auffallend. So war in einer typischen Reihe bei 20—22° C das relative Wachstum am Ende des 2. Tages, wenn man das reine Agar als Grundlage der Vergleichen annimmt: Einfaches Agar 100 Proz., mit Rohrzucker 75 Proz., mit Glycerin 65 Proz., mit Milchzucker 0 Proz., mit Traubenzucker 0 Proz. In derselben Versuchsreihe war am 4. Tage das Wachstum in Rohrzucker- und Glycerinagar gleich dem auf einfachem Agar, während in dem Milchzucker wenige vereinzelte Kolonien erschienen. Nach einem Monat übertraf das Wachstum auf Rohr- und Milchzucker und Glycerin bei weitem das auf einfachem Agar. Das auf Glycerinagar bildete eine dicke, halbopake, rahmweiße, naß glänzende Schicht, die die ganze schiefe Oberfläche bedeckte. Das auf Rohrzuckeragar war ähnlich, aber dünner und bedeckte die schiefe Oberfläche nicht völlig; es wurde auf 60 Proz. von dem auf Glycerin geschätzt. Auf Milchzuckeragar war der Charakter des Wachstums wieder dem auf Glycerin ähnlich; aber nur die untere Hälfte der schiefen Fläche war bedeckt; sein Betrag wurde auf 40 Proz. von dem auf Glycerin erhaltenen geschätzt. Auf einfachem Agar war das Wachstum nicht über halb so dick als das vorige, und wurde zu 25 Proz. von dem auf Glycerin geschätzt. Auf dem Traubenzuckeragar fand in dieser Reihe kein Wachstum statt, und wenn es in anderen Fällen zur Entwicklung kam, wuchs es nur schwach. Die Gasbildung bei diesen Agarversuchen wird in einem anderen Paragraphen besprochen werden.

4) Milch. Gutes Wachstum fand statt in abgerahmter Milch, Reaktion + 1,7 Proz. bis + 2,0 Proz. Keine Färbung wurde entwickelt. Am 3. Tage war die Reaktion auf Lackmuspapier entschieden sauer und blieb dann so. Gerinnung trat am 4. Tage ein; das Gerinnsel war zuerst weich, wurde aber beim Stehen fester; nach 2 Wochen nahm es $\frac{1}{8}$ des Volumens des Kulturbodens ein. Wenige Gasbläschen wurden beobachtet. Der darüber schwim-

mende Molken war nicht gefärbt, blieb aber trübe, auch nach mehrwöchentlichem Stehen. Solche geronnene Kulturen hatten einen entschiedenen, angenehmen Käsequarkgeruch; der Quark wurde nach Erwärmung auf 60° C gekostet und hatte einen Käsequarkgeschmack, zwar nicht angenehm, aber nicht bitter.

5) Lackmusmilch (Reaktion amphoterisch auf neutralem Lackmuspapier). Röhrenkulturen zeigten deutliche Rötung am 2. Tage bei 20—24° C. Die Entfärbung begann im unteren Teile in 7—10 Tagen, war 3 Tage später vollständig und nach ungefähr einem Monat kehrte die rote Färbung zurück.

6) Loeffler's Blutserum (Kalbsblut). Wachstum von Strichkulturen ungefähr wie auf Agar, keine Entfärbung des Serums, keine Verflüssigung während zweimonatlichen Wachstums bei 20 bis 30° C.

7) Eiereiweiß (koaguliert bei 80—90° C). Strichkulturen gaben ungefähr dieselben Resultate wie auf Blutserum.

8) Ushinsky's Lösung. Schnelles, kräftiges Wachstum. Ein ziemlich dickes, aber sehr gebrechliches Oberflächenhäutchen wurde gebildet sowie ein reichlicher weißer Niederschlag, der in einen Monat alten oder älteren Kulturen 20 Proz. der ursprünglichen Flüssigkeit betrug, also 20mal mehr, als sich in Kulturen in Rindfleischbrühe bildet. Der ursprüngliche Kulturboden war leicht sauer gegen Lackmuspapier; während der beiden ersten Wochen des Wachstums nahm diese Säure ein wenig ab, aber dann wieder zu, so daß 2 Monate alte Kulturen stärker sauer waren als die ursprüngliche Flüssigkeit.

9) Dunham's Peptonlösung (Witte's Peptonum siccum). Schwache, aber lange dauernde Trübung, kein Häutchen, kein Rand. Niederschlag sehr gering, auf 0,01 Proz. des Volumens des Nährmittels geschätzt.

10) Andere zusammengesetzte Nährböden. Auf den Rat von Dr. E. F. Smith wurden folgende versucht:

a) Wasser 400 ccm, Dipotassiumphosphat 80 mg, Ammoniumphosphat 40 mg, Magnesiumsulfat 40 mg, Natriumacetat 2 g. In dieser Flüssigkeit war das Wachstum ähnlich wie in Dunham's Peptonlösung, aber etwas kräftiger, der Niederschlag ungefähr doppelt so stark.

b) Dasselbe wie bei a, aber ohne essigsäures Natrium.

c) Ebenso wie bei a, aber ameisensäures Natrium statt des essigsäuren.

Weder in b noch in c fand Wachstum statt.

11) Gekochte Vegetabilien. Die Röhren für diese Kulturen wurden nach Dr. E. F. Smith's Methode hergerichtet, wie folgt: In jede Röhre wurde ein Cylinder von dem gewünschten Vegetabil gebracht, ungefähr 5 cm lang, mit schräg geschnittenem oberen Ende, um die Keime aufzunehmen. Vor dem unzusammenhängenden Dämpfen wurde genug destilliertes Wasser eingebracht, um den Cylinder halb einzutauchen. (Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Replik auf J. Behrens „Bemerkungen“ im Referate „Ueber neue Probleme der Bodenimpfung“.

Von Dr. **Julius Stoklasa**,
Professor an der technischen Hochschule in Prag.

Im heurigen Jahrgang unserer „Zeitschrift für das landwirtschaftliche Versuchswesen in Oesterreich“. Jahrg. III. p. 440—446 habe ich den ersten Teil der Studie „Ueber die Bedeutung der Bakterien für die Entwicklung der Pflanzen“ veröffentlicht. In meiner Studie schildere ich eingangs, daß diese Versuche mit „*Brassica oleracea*“ durchgeführt wurden, welche sich durch eine kurze Vegetationsperiode auszeichnet. Sämtliche Versuche wurden durch 3 Jahre wiederholt und dabei führe ich, als Vegetationsperiode 52, respektive 41 und 43 Tage an. In der ganzen Publikation wurde bloß einmal der Name „*Brassica oleracea*“ angeführt, an anderen Stellen heißt es bloß „*Brassica*“. Jeder objektive Referent wird erkennen, daß das ein Lapsus ist, der durch ein Versehen in der Korrektur begangen wurde und daß es sich um eine andere *Brassica*-Art — thatsächlich um „*Brassica oleifera*“ (Sommerrübsen), botanisch richtig, „*Brassica rapa oleifera*“ — handelt. Daß es sich in Wirklichkeit um einen bloßen Lapsus in der Korrektur handelt (welche, nebenbei bemerkt, nicht einmal von mir selbst durchgeführt wurde), geht daraus hervor, daß in der Publikation stets eine kurze Vegetationsperiode in den Vordergrund gestellt wird, welche *Brassica oleifera* de facto besitzt und mit welcher ich durch viele Jahre Versuche zur Bekämpfung der *Heterodera*-Nematoden gemacht habe, denn wie bekannt, wird die *Brassica oleifera* (Sommerrübsen) allgemein als die geeignetste Fangpflanze angeführt. Daß ich die Vegetationsperiode (obwohl dies der Herr Referent nicht behauptet) von *Brassica oleracea* und *Brassica oleifera* nicht kennen sollte, ist absolut ausgeschlossen, denn die ausführliche Publikation, welche ich gemeinschaftlich mit Professor Vaňha herausgegeben, ist hierfür ein unzweideutiger Beleg. (Die Rübennekmatoden, auf Veranlassung des Vereins für Zuckerindustrie in Böhmen bearbeitet von Prof. Johann Vaňha und Dr. Julius Stoklasa. Berlin (Paul Parey) 1896. p. 29 ff.) Auf der eben citierten Seite beschreiben wir die Familie der Kreuzblütler (*Cruciferae*) und führen alle Arten an, welche von der Rübennekmatode befallen werden. Zum Ueberfluß bemerke ich, daß auf unserer technischen Hochschule ein Kurs über die Krankheiten der Zuckerrübe für Zuckerfabrikanten und Landwirte abgehalten wurde, in welchem ich persönlich auf den Feldern in Vysočan die Methode demonstriert habe, wie *Brassica oleifera* mit Vorteil als Fangpflanze zur Vertilgung der *Heteroderen* verwendet

zu werden vermag. Da ich mich aus persönlicher Beobachtung der Kultur von *Brassica oleifera* überzeugt habe, daß sie sich wegen ihrer kurzen Vegetationsperiode und ihrer bedeutenden Widerstandsfähigkeit zur Anstellung von Versuchen eignet, habe ich sie als Versuchspflanze für meine Studie: „Ueber die Bedeutung der Bakterien für die Entwicklung der Pflanzen“ benutzt.

Schließlich noch ein Wort! In meiner Arbeit ist ferner, und zwar ebenfalls infolge eines Versehens in der Korrektur, der Satz zu lesen: „Aus diesen Versuchen erhellt, daß bei meinen Versuchen ohne Mikroben im vitalen Boden die Vorgänge im Pflanzenorganismus nicht normal verliefen.“ Kein objektiver Referent wird mir doch die Vorstellung insinuierten, daß im sterilisierten Boden eine „Vitalität“ existiert, aber jeder derselben wird sofort sicherlich erkennen, daß es sich hier um eine bloße Wortverstellung handelt, und daß es richtig heißen soll, „im Boden die vitalen Vorgänge im Pflanzenorganismus meist normal verliefen.“ Nebenbei bemerke ich, daß von der Richtigkeit dieser meiner Behauptung sich jeder durch Einsichtnahme in das, in böhmischer Sprache verfaßte Original des von uns herausgegebenen Berichtes der landwirtschaftlich-physiologischen Versuchstation in Prag. Jahrg. 1899. p. 19, in dem der betreffende Passus in seiner richtigen Wortfolge enthalten ist, überzeugen kann.

Referate.

Pfeiffer und Lemmermann, Denitrifikation und Stallmistwirkung. (Die landw. Versuchsstationen. Bd. LIV. p. 386.)

Die umfangreichen Untersuchungen der Verff. sollen zur Lösung verschiedener, noch nicht völlig geklärter Fragen des Denitrifikationsprozesses beitragen. Zunächst wurde bei Versuchen in Vegetationsgefäßen unter Verwendung von weißem Senf als Kulturpflanze der Nachweis erbracht, daß sowohl eine Vermehrung der organischen Substanz, als auch eine solche der Denitrifikationsbakterien die Ausnutzung des im Dünger zugeführten Stickstoffs ungünstig beeinflusst, daß der Stallmist also nicht nur infolge seines Gehaltes an organischen Stoffen, sondern auch als Bakterienträger schädlich wirkt. Bei der ersten 44 Tage nach der Einsaat gewonnenen Ernte hatte nämlich der Stallmist — ein anscheinend ziemlich lang und mangelhaft gelagerter, an schwer zersetzlichen Stickstoffverbindungen reicher Dünger — nicht nur keine Steigerung der Stickstoffernie erzielt, sondern sogar die Ausnutzung des Bodestickstoffs ungünstig beeinflusst. — Andererseits hatten sowohl Reinkulturen der denitrifizierenden Bakterien als auch Zusätze von Kaliumcitrat — einem ausgezeichneten Nährmaterial für diese Mikroorganismen — eine Depression der Stickstoffernie bewirkt.

Auch bei einer gleichzeitigen Zugabe von Salpeter hatten Stallmist und die erwähnten Zusätze die Stickstoffausnutzung vermindert, obwohl durch Salpeter allein eine Steigerung des Stickstoffertrages hervorgebracht wurde.

Bestimmte Beziehungen zwischen organischer Substanz und Denitrifikation, wie sie von Gerlach zuerst in präziser Weise formuliert wurden, werden von den Verff. auf Grund ihrer Versuchsergebnisse nicht zugegeben.

Bei 2 folgenden Ernten wurde durch Stallmist eine Stickstoffsteigerung erzielt, wahrscheinlich infolge der langsam fortschreitenden Zersetzung des Mistes. Beachtenswert ist, daß bei diesen Ernten eine Salpetergabe neben Stallmistdüngung in günstiger Weise eingewirkt hat, eine Erscheinung, die besonders bei den noch zu besprechenden Versuchen auf Freilandparzellen deutlich zum Ausdruck kam.

Bei Aufstellung der vollständigen Stickstoffbilanz durch Gegenüberstellung aller die „Einnahmen“ und „Ausgaben“ darstellenden Stickstoffwerte kommen die Verff. zu folgenden Schlüssen: Für die ohne Stickstoffdüngung gelassenen Gefäße ergibt sich ein Stickstoffplus, das auf die Thätigkeit der im Boden enthaltenen stickstoffassimilierenden Bakterien zurückzuführen sein dürfte. Bei ausschließlicher Verwendung von Salpeter als Stickstoffdünger haben die Analysen eindeutige Resultate nicht ergeben, doch dürfte eine Verminderung des Stickstoffkapitals in diesen Fällen anzunehmen sein, für deren Erklärung auf die von Richter hervorgehobene Möglichkeit einer Schädigung der stickstoffassimilierenden Bodenbakterien durch leicht lösliche Stickstoffverbindungen hingewiesen wird. Die Düngung mit Stallmist allein ergab bei Berücksichtigung der wahrscheinlichen Analysenfehler im ungünstigsten Falle eine bedeutende Unterbilanz, welche die Verff. jedoch nicht auf eine unter Entweichen gasförmigen Stickstoffs vor sich gehende Denitrifikation, sondern auf andere Faktoren zurückführen. Die bei Zugabe von Kaliumcitrat und Reinkulturen schließlich ermittelte Unterbilanz an Stickstoff wird allerdings im wesentlichen durch ein Entweichen von elementarem Stickstoff erklärt.

Bei den Versuchen auf Freilandparzellen unter Verwendung von weißem Senf als Versuchspflanze stellte sich zunächst heraus, daß eine Schädigung der Salpeterwirkung weder durch gelagerten Rindvieh- und Pferdemit, noch durch frischen Pferdekot bewirkt werden konnte. Der Unterschied, der sich hierbei von den Gefäßversuchen ergibt, wird dadurch erklärt, daß für die Denitrifikation weit günstigere Bedingungen in den Gefäßen herrschen, als auf freiem Lande.

Der Stickstoff der verwendeten 3 tierischen Dünger wurde bei den Freilandversuchen in einem außerordentlich verschieden hohen Grade ausgenutzt, was nach Ansicht der Verff. weder auf den verschieden hohen Gehalt der 3 Düngerarten an löslichen Stickstoffverbindungen, noch auf eine verschieden weit fortgeschrittene Denitrifikation, d. h. auf ein Entweichen von freiem Stickstoff zu-

rückgeführt werden kann. Die Hauptursache der ungleichen Wirkung wird vielmehr in der Verschiedenheit der Zersetzungsfähigkeit der in den Düngern enthaltenen Stickstoffverbindungen erblickt.

Bei der zweiten Ernte ließen die tierischen Dungstoffe eine sehr deutliche Nachwirkung erkennen. Der Nitratstickstoff, der für sich allein keine nachweisbare Nachwirkung ausgeübt hatte, ließ bei Anwesenheit der verschiedenen Dünger ebenfalls eine ganz beträchtliche Nachwirkung wahrnehmen. Diese wichtige Thatsache wird von den Verff. so erklärt, daß durch die Thätigkeit von Bodenorganismen ein Teil des Nitratstickstoffs in organischer Form festgelegt wird.

Unter Hinweis auf zahlreiche auch von anderer Seite angestellte Untersuchungen wird schließlich nochmals betont, daß die Stickstoffverluste, die auf dem Wege der Denitrifikation durch Entbindung elementaren Stickstoffs im Boden stattfinden, durchaus nicht die hervorragende Rolle spielen, die ihnen von manchen Seiten zugeschrieben wird, daß vielmehr der Festlegung des leicht beweglichen Stickstoffs durch verschiedenartige Bodenorganismen die größte Bedeutung beizulegen ist. Vogel (Posen).

Macfadyen, Allan, G. Harrie Morris und Sidney Rowland,
Ueber ausgepreßtes Hefezellplasma (Buchner's Zymase). [Erste Mitteilung.] (Ber. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. XXXIII. 1900. No. 14. p. 2764—2790.)

Die Verff. wenden sich in dieser sehr umfangreichen Arbeit gegen die Auffassung Buchner's. Sie begannen dieselbe in der ausgesprochenen Absicht, die Resultate, welche Buchner mit dem ausgepreßten Hefezellplasma gewonnen hatte, einer experimentellen Prüfung zu unterziehen. Es erschien dies um so nötiger, als Buchner seine Versuche ausschließlich mit untergäriger Hefe angestellt hat, und es von Interesse sein mußte, festzustellen, ob die obergärige Hefe, welche in den englischen Brauereien verwendet wird, die gleichen Resultate geben würde.

Im Anfang schlossen sich die Verff. dem Buchner'schen Verfahren zum Auspressen der Zellen an, schließlich wurden sie aber zu folgender Anordnung geführt.

Die Hefe wurde solange mit gleichen Teilen Wasser gewaschen und dann centrifugiert, bis das Wasser völlig klar und farblos abließ.

Um einen Preßsaft von völlig natürlicher Zusammensetzung zu erhalten, wurde auch die kleine Quantität anhängenden Wassers durch eine modifizierte Form der Filterpresse entfernt, wozu ein Druck von 70—100 Atmosphären erforderlich war.

Die Zerkleinerung der mit Silbersand vermischten Hefezellen wurde durch eine mechanische Vorrichtung bewirkt, deren Details den Gegenstand einer besonderen Mitteilung bilden sollen.

Die mikroskopische Prüfung der Masse am Schlusse des Prozesses ließ keine unversehrten Zellen mehr erkennen.

Um eine Erwärmung der zu zerkleinernden Masse über $+ 15^{\circ}$ zu verhüten, wurde dieselbe durch Cirkulierenlassen einer Salzsoole von $- 5^{\circ}$ gekühlt. Beim Auspressen der mit Kieselguhr gemischten Masse unter einem Druck von 200—350 Atmosphären erhielt man eine völlig klare, opaleszierende Flüssigkeit.

Verff. haben in einer Tabelle die Ausbeuten und die spez. Gewichte der Presssäfte aus verschiedenen Hefeproben zusammengestellt. Schlüsse wollen sie vorläufig nicht aus denselben ziehen. Die Ergebnisse waren recht verschiedenartige. Das spez. Gewicht steht in keiner ersichtlichen Beziehung zu irgend einem der anderen Werte. Auch von letzteren scheint sich keiner einer bestimmten Gesetzmäßigkeit unterzuordnen.

Allgemein wurden die größten Ausbeuten mit solchen Hefeproben erzielt, welche aus den Gärgefäßen 2—3 Stunden vor dem Zerreiben geschöpft waren.

Die physikalischen Eigenschaften des Presssaftes entsprechen genau den von Buchner als charakteristisch angegebenen. Das in dem Saft enthaltene proteolytische Enzym war sehr wirksam und bewirkte eine rasche Verdauung der Eiweißstoffe in der Flüssigkeit.

Aus bestimmten Gründen nehmen die Verff. an, daß der Presssaft, welcher zu den folgenden Versuchen diente, in jedem Fall zwar weit entfernt war von dem Zustand, in dem er in der lebenden Hefezelle existiert, daß er jedoch andererseits seinen Lebensbedingungen näher war, als der Presssaft von Buchner, zu dessen Gewinnung Wasser benutzt wurde. Denn Wasser besitzt eine bestimmte Wirkung auf die Presssäfte.

Von Anfang an wurde konstatiert, daß in praktisch allen Fällen der Hefepresssaft freiwillig Gas entwickelt, sei es, daß er sich selbst überlassen blieb oder mit Zucker vermischt wurde. Das durch die Selbstgärung des Presssaftes entwickelte Gasvolumen übertraf in manchen Fällen sogar dasjenige, welches aus derselben Menge mit Zucker vermischten Presssaftes entwickelt wurde.

Diese spontane Gasentwicklung tritt auch ein, wenn der Presssaft bei so niedriger Temperatur aufbewahrt wird, daß er in festem Zustand bleibt.

Die hauptsächlich verwendeten Antiseptika waren Natriumarsenit, Toluol und Thymol, alle in dem Verhältnis 1:100.

Aus der Tabelle II ist ersichtlich, daß in nahezu jedem Falle durch die Selbstgärung des Presssaftes mehr Gas erhalten wurde, als wenn die Gärung in Gegenwart von Rohrzucker vor sich ging. Ein anderer beachtenswerter Punkt ist der große Unterschied in der Wirksamkeit des Presssaftes aus verschiedenen Hefeproben. Bemerkenswert ist ferner, daß bei weitem der größere Teil der Einwirkung nach 24 Stunden zu Ende ist.

Zwischen der Menge des entwickelten Gases und der Art des Pressens (Zusatz von Wasser zum Presskuchen nach jeder Pressung) besteht keine bestimmte Beziehung.

Bezüglich der Wirksamkeit des Presssaftes besteht die allgemeine Tendenz, daß die Gärkraft bis zu einem gewissen Punkt

mit dem Alter der Hefe steigt, wobei das Maximum ungefähr am 3. oder 4. Tag nach dem Einsammeln der Hefe erreicht wird. Auf die Erreichung des Maximums folgt dann ein sehr schnelles Abnehmen der Wirksamkeit des Preßsaftes. Die Schwankungen in dem Betrage der Selbstgärung sind nicht so groß, aber auch hier besteht die Tendenz, derselben Richtung zu folgen.

Die Thatsache, daß die Wirksamkeit des Preßsaftes mit dem Alter der Hefe bis zu einem gewissen Punkt zunimmt, ist eine Umkehrung dessen, was Buchner und andere Beobachter auf dem Kontinent bei den untergärigen Hefen festgestellt haben.

Wird der Preßsaft bei oder unterhalb des Gefrierpunktes aufbewahrt, so nimmt der Umfang der Selbstgärung sowie auch die Zucker-zersetzende Kraft ab.

Kleinere Zuckermengen (5—10 Proz.) geben die günstigsten Resultate, während größere Quantitäten Zucker die Einwirkung merklich verlangsamen.

Aus Rohrzucker wird mehr Kohlendioxyd erhalten als aus irgend einem anderen Zucker.

Höhere Temperatur scheint die Wirksamkeit des Preßsaftes zu erhöhen.

Natriumarsenit und Formalin scheinen die Wirksamkeit des nicht mit Zucker versetzten Preßsaftes in geringerem Maße zu erhöhen; bei Gegenwart von Zucker widersprechen die Resultate einander sehr.

Die Filtration setzte zwar stets in beträchtlichem Maße sowohl die Selbstgärung als auch die Einwirkung des Preßsaftes auf Zucker herab, hebt dieselbe jedoch niemals ganz auf. Diese Verminderung der gasentwickelnden Kraft ist von einer sehr beträchtlichen Abnahme des spezifischen Gewichtes der Preßsäfte begleitet. Die Versuchsergebnisse stimmen mit denen von Buchner überein.

Die Selbstgärung wird sowohl durch Verdünnung mit Wasser als auch mit Salzlösung stark beeinflusst. Während die Zugabe schon des gleichen Volumens Wasser die Wirkung merklich verzögert, hebt die Verdünnung mit dem doppelten Volumen Wasser die Gasentwicklung praktisch auf. Bei Verwendung einer Salzlösung zeigt sich diese Wirkung noch deutlicher.

Bei der Gegenwart von Zucker ist die verzögernde Wirkung ebenfalls gut wahrzunehmen, speziell wenn die Konzentration des Zuckers mit der Verdünnung abnimmt.

In letzterem Fall ist der Einfluß der Verdünnung ebenso deutlich erkennbar wie bei der Anwendung von reinem Wasser oder Salzlösung. Wird die Stärke der Zuckerlösung konstant erhalten, so ist die Verzögerung ebenfalls beträchtlich, jedoch nicht so groß wie in den anderen Fällen.

Der paralyisierende Einfluß der Verdünnung auf die Wirksamkeit des Preßsaftes steht mit dem allgemeinen Verhalten der Enzyme unter ähnlichen Bedingungen in so großem Widerspruch, daß derselbe nach Meinung der Verff. einen schwerwiegenden Einwand gegen die Annahme der Buchner'schen Enzym-Theorie bedeutet.

Der aus der Presse kommende Saft enthält immer beträchtliche Mengen Alkohol; Verff. fanden bei speziellen Versuchen, daß diese Mengen genau mit der Quantität Alkohol übereinstimmen, welche in der Hefe noch enthalten ist, nachdem dieselbe gründlich gewaschen und ausgepreßt wurde.

Werden Korrekturen für die während der Selbstgärung des Preßsaftes erzeugten Mengen Alkohol und Kohlendioxyd angebracht, so ist das Verhältnis zwischen dem übrig bleibenden Alkohol und Kohlendioxyd sehr verschieden und entspricht nur in den Fällen, in welchen ein besonders wirksamer Preßsaft verwendet wurde, annähernd dem von Pasteur gefundenen. Bei schwächeren Preßsäften scheint gar kein oder nur ein geringer Zusammenhang zwischen den Mengen beider zu bestehen, wenn auch die Regel gilt, daß die Quantität des Alkohols größer ist als diejenige des Kohlendioxydes. Die Menge an Zucker, welche verschwindet, ist weit größer als diejenige, welche — nach den für Alkohol oder Kohlendioxyd gefundenen Zahlen — thatsächlich vergoren wird.

Je genauer jedoch das Verhältnis zwischen den beiden Produkten sich dem theoretischen anschließt, um so geringer ist der Ueberschuß an verschwindendem Zucker.

Die Annahme, daß es irgend ein Bestandteil des Preßsaftes sein möchte, welcher eine korrekte Bestimmung des Zuckers verhinderte, erwies sich nach diesbezüglichen Versuchen als irrig.

Verff. geben ihrer Vermutung hinsichtlich dieses Verschwindens im folgenden Raum. Während des Lebens der Hefe wird Zucker vom Organismus derselben aufgenommen und zu Kohlendioxyd und Alkohol umgesetzt. Im speziellen vollzieht sich dieser Prozeß wahrscheinlich in 2 Stufen: 1) findet ein Aufbauen und Inkorporieren der Zuckermoleküle durch die lebensthätige Hefe statt (Anabolismus), und 2) tritt ein Auseinanderfallen dieses komplizierten Materials in einfachere Produkte ein, von denen Kohlendioxyd und Alkohol die regelmäßigen und wesentlichen Bestandteile sind (Katabolismus). Könnte es nicht sein, daß nach dem Auspressen des Zellsaftes die gleiche Reihe von Vorgängen sich abspielt, wenigstens in dem Zeitraume, in welchem der leicht veränderliche und instabile Zellsaft in einem Zustand verharret, welcher annähernd mit demjenigen identisch ist, in welchem er sich in der lebenden Zelle befand? Erscheint diese Hypothese annehmbar, so ließe sich die wechselnde Wirksamkeit des Preßsaftes wenigstens teilweise, wie folgt, erklären: Es sei x ein hypothetischer Protoplasmabestandteil der Zelle, der sich mit dem Zucker zu verbinden vermag. Die Prozesse, welche sich in dem ausgepreßten Zellsaft, in welchem x auch vorhanden ist, abspielen, könnten dann vielleicht die folgenden sein: a) Bei der Selbstgärung, nach dem Auspressen des Saftes, zersetzt sich kontinuierlich die während des Lebens der Zelle entstandene Zucker- x -Verbindung und liefert Kohlendioxyd und Alkohol. b) Bei dem Verschwinden des Zuckers schreitet die Bildung der Zucker- x -Verbindung bis zu einem gewissen Punkte vor, der abhängig von der Wirksamkeit des Preßsaftes ist, aber die Zersetzung dieser Verbindung erreicht ihr Ende,

bevor die ganze Zuckermenge in Form von Kohlendioxyd und Alkohol in Freiheit gesetzt wurde. Bei einem sehr wirksamen Preßsaft kann man sich nun vorstellen, daß dieser Prozeß sich so lange vollzieht, bis praktisch die sämtliche Zucker-x-Verbindung zerlegt worden ist. Bei einem schwachen Preßsaft findet der Aufbau-prozeß schneller als der Abbauprozeß statt, und demzufolge bleibt, wenn die Thätigkeit von x aufhört, ein Ueberschuß von Zucker in Gestalt der Zucker-x-Verbindung in der Lösung.

Die bisher gewonnenen Resultate, welche Verff., wie folgt, zusammenfassen, scheinen nicht zu einer Erklärung des Gärungsprozesses auf Grund der Emzymtheorie zu führen, sondern eher zu einer solchen, welche sich auf das Phänomen der Lebensthätigkeit des Hefezellprotoplasmas stützt.

1) Die obergärige Hefe der englischen Brauereien liefert bei geeigneter Behandlung einen Zellsaft, der die vorübergehende Fähigkeit besitzt, Zucker in Alkohol und Kohlensäure zu zersetzen.

2) Der Betrag an von einem wirksamen Preßsaft entwickelten Gas ist ebenso groß oder größer, als der von Buchner ermittelte.

3) Der Zellsaft, wie er von den Verff. erhalten wurde, erleidet eine sehr beträchtliche Selbstgärung; die letztere übertrifft in einigen Fällen diejenige, welche eine Mischung desselben Preßsaftes mit Rohrzucker aufweist.

4) Eine mäßige Verdünnung (1:2) mit Wasser oder physiologischer Kochsalzlösung hebt praktisch die gesamte Gärthätigkeit des Preßsaftes auf.

5) Nur bei einem sehr wirksamen Preßsaft ist das Verhältnis an entstandenem Alkohol zum Kohlendioxyd annähernd dasselbe, wie bei der gewöhnlichen alkoholischen Gärung.

6) Läßt man den Zellsaft auf Zucker — Rohrzucker oder Dextrose — einwirken, so ist die verschwindende Zuckermenge erheblich größer als diejenige, welche zur Produktion von Kohlendioxyd und Alkohol verbraucht werden könnte.

H. Will (München).

Hanuš und Stocký, Ueber die chemische Einwirkung der Schimmelpilze auf die Butter. (Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Gen.-Mittel. Jahrg. III. Heft 9. p. 606).

Nachdem die Verff. bei Versuchen zur Kultivierung verschiedener gewöhnlicher Luftschimmel auf Butter gefunden hatten, daß einige Arten besonders üppig auf diesem Nährboden gedeihen, wählten sie den sehr gut wachsenden *Mucor mucedo* zu eingehenderen Studien über die chemischen Veränderungen der von diesem Pilze zersetzten Butter aus. Nach 3 Monaten und nach einem Jahre wurden Analysen einer infizierten und einer ungeimpften Kontrollbutter ausgeführt. Obwohl neben dem absichtlich zugefügten Schimmelpilze auch andere Mikroorganismen, vor allem *Oidium lactis*, auf den Butterproben zu üppiger Entwicklung gekommen waren, so lassen die Analysenergebnisse doch den Schluß zu, daß die Schimmelpilze in der ersten Entwicklungsperiode (bis zu etwa 3 Monaten) sich vornehmlich auf den Verbrauch

des Milchzuckers und Caseïns beschränkten, ohne sonstige bedeutendere Veränderungen hervorzubringen. Später erfolgte dann eine energische Spaltung des Butterfettes. Hierbei hatte sich die Menge der ungesättigten Säuren verhältnismäßig nur wenig geändert (Jodzahlen 36,2 bezw. 35,2), die Acidität der verschimmelten Butter war aber etwa 20mal größer, als die der ursprünglichen. Ein Teil der flüchtigen Säuren mit niedriger Molekulargröße war vollständig zerstört worden, auch aldehydartige Verbindungen traten in der mit Schimmel durchwachsenen Butter auf. *Oidium lactis* allein hatte ganz analog, nur nicht so energisch gewirkt.

Vogel (Posen).

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Mohr, K., Versuche über die Bekämpfung der Blutlaus mittels Petrolwasser. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. Bd. X. 1900. p. 154.)

Im Versuchsgarten für Obstbau in Sachsenhausen bei Frankfurt a. M. hat Verf. im Mai 1900 eine ganze Reihe wagrechter Cordons gesehen, welche vollständig kahl dastanden. Diese abgestorbenen Bäume hatten als Versuchsobjekt zur Vertilgung der Blutlaus mittels Petrolwasser gedient, welche im Herbst 1899 nach Blattfall berieselt wurde. Die meisten Cordons (Baumann-Reinette) waren vollständig eingegangen; an den jungen vorjährigen Trieben war an der unteren Seite Blasenbildung der Rinde zu beobachten, und an älterem Holz sah man auffälligerweise bläuliche Flecken, deren Natur unbekannt blieb. Die in der Nähe gestandenen Erdbeerpflanzen waren radikal verschwunden. Hieraus ist zu ersehen, daß man bei dem so vielseitig empfohlenen Verfahren der Bespritzung mit Petrolwasser doch große Vorsicht üben muß.

Stift (Wien).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. ARTHUR WÜRZBURG,
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

- Curtis, H. J.**, Essentials of practical bacteriology. 8°. London (Longmans & Co.) 1900. 9 sh.
- Jess, F.**, Kompendium der Bakteriologie und Blutserumtherapie f. Tierärzte u. Studierende. 8°. X, 98 p. Berlin (Schoetz) 1900. 3 M.
- Newman, G.**, Bacteria. Especially as they are related to the Economy of Nature, to Industrial Processes, and to the Public Health. 2. ed., with additional matter, including New Chapters on Tropical Diseases and the Bacterial Treatment of Sewage. (Progressive Science Series.) 8°. 414 p. London (J. Murray) 1900. 6 sh.

- Schmidt, J. og Weis, F.**, Bakteriernes. Naturhistorisk grundlag for det bakteriologiske studium. II. Fysiologi, udbredelse, forekomst og betydning, af F. Weis. 8°. Kopenhagen (Nordiske Forlag) 1900. 3 kr.
- Wassermann**, Was hat die Landwirtschaft von der Bakteriologie zu erwarten? (Blätter f. Zuckerrübenbau. 1900. No. 22. p. 339—346.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

- Bodet, A. et Gruchoff**, Sur les propriétés des sacs de collodion et leur rôle en bactériologie. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1900. No. 35. p. 965—967.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

- Bau, A.**, Ist für die Spaltung der Melitriose in Melibiose und d-Fruktose durch Organismen ein besonderes Enzym anzunehmen? (Wchschr. f. Brauerei. 1900. No. 47. p. 698.)
- Buchner, E.**, Bemerkungen zur Arbeit von A. Macfadyen, G. H. Morris und S. Rowland: „Ueber ausgepresstes Hefezellplasma (Buchner's Zymase)“. (Ber. d. dtsh. chem. Gesellsch. 1900. No. 17. p. 3311—3315.)
- —, Zymase aus getöteter Hefe. (Ibid. p. 3307—3310.)
- v. Buttel-Reepen, H.**, Zwei große Distomen. (Zoolog. Anzeiger. 1900. No. 629. p. 585—598.)
- Castle, W., E.**, Some North American fresh-water Rhynchobdellidae and their parasites. (Bullet. of the Mus. of comparat. zool. Harv. College 1900. Vol. XXXVI. No. 2. p. 17—64.)
- Child, C. M.**, Abnormalities in cestodes. (Science. 1900. No. 293. p. 228.)
- Cookerell, T. D. A.**, Protozoan studies. (Amer. natural. 1900. Oct. p. 824—825.)
- Laveran et Mesnil, F.**, Sur le mode de multiplication du Trypanosome du rat. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1900. No. 35. p. 976—980.)
- Léger, L. et Hagenmüller, F.**, Sur la morphologie et l'évolution de l'Ophryocystis Schneideri n. sp. (Arch. de zool. expérim. T. VIII. 1900. No. 1. Notom. No. 3, VI. p. XL—XLV.)
- Looss, A.**, Nachträgliche Bemerkungen zu den Namen der von mir vorgeschlagenen Distomidengattungen. (Zoolog. Anzeiger. 1900. No. 630. p. 601—608.)
- Lüstner, G.**, Die Perithezien des Oidium Tuckeri. (Weinbau u. Weinhandel. 1900. No. 47. p. 471—472.)
- Matsushita, T.**, Die Einwirkung des Kochsalzgehaltes des Nährbodens auf die Wuchsform der Mikroorganismen. (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XXXV. 1900. Heft 3. p. 495—510.)
- Nicolle, M.**, Eléments de microbiologie générale avec figures. 18°. Paris (O. Doin) 1900. 4 fr.
- Raebiger, W.**, Eine neue färberische Darstellung der sogenannten Kapseln der Milchbrandbacillen. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. 1900/1. Heft 3. p. 68—70.)
- v. Ráts, St.**, Drei neue Cestoden aus Neu-Guinea. [Vorl. Mitteil.] (Centralbl. f. Bakteriol. I. Abt. Bd. XXVIII. 1900. No. 19. p. 657—660.)
- Saul, E.**, Beiträge zur Morphologie des Staphylococcus albus. (Berl. klin. Wchschr. 1900. No. 47. p. 1058—1060.)
- Schwalbe, E.**, Ueber Variabilität und Pleomorphismus der Bakterien. (Münch. med. Wchschr. 1900. No. 47. p. 1617—1621.)
- Weil, E.**, Die Entstehung des Solanins in den Kartoffeln als Produkt bakterieller Einwirkung. (Pharmaceut. Ztg. 1900. No. 93. p. 901.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft und Wasser.

- Grimaldi, S.**, Il gesso che inquinava le acque dei pozzi (cisterne) di Siena. (Riv. d'igiene e san. publ. 1900. No. 22. p. 772—788.)
- Grubbs, S. B.**, New methods for the purification of the water supplies of cities and towns. (Publ. health rep. 1900. No. 44. p. 2671—2675.)

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

- Heim, L.**, Ueber die Bedeutung der Bakteriologie bei der Lebensmittelkontrolle. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel etc. 1900. Heft 11. p. 740—746.)

Fleisch.

- Baier, E.**, Ueber Vorprüfung von Fleisch auf Formaldehyd. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. 1900/1. Heft 3. p. 70—73.)
Hockelmann, C., Beitrag zur Geschichte der Fleischbeschau in der Rheinprovinz. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. 1900/1. Heft 3. p. 65—68.)
Lehmann, E., Ueber die Aetiologie der Fleischvergiftungen. [Diss.] gr. 8°. 39 p. Straßburg (Josef Singer) 1900. 1 M.

Milch, Molkerei.

- Adamets, L.**, Sind Milchsäurebakterien oder Tyrothrixarten die Erreger von Reifung und Aroma beim Emmenthalerkäse? (Milch-Ztg. 1900. No. 48. p. 753—754.)
Baron, C., Ein Beitrag zur Frage der Milchregulative. (Hygien. Rundschau. 1900. No. 23. p. 1129—1144.)
Bernstein, A., Prüfung der erhitzten Milch. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. 1900/1. Heft 3. p. 80—81.)
Vieth, Pasteurisieren der Milch und Käseerei. (Landwirtschaftl. Wchschr. f. d. Prov. Sachsen. 1900. No. 46, 47. p. 419—421, 427—428.)
Young, A. G., Formaldehyde as a milk preservative. (Med. age. Vol. XVIII. 1900. No. 19. p. 723—737.)

Wein, Weinbereitung.

- Koch, A.**, Ueber die Ursachen des Verschwindens der Säure bei Gärung und Lagerung des Weines. (Mitt. über Weinbau u. Kellerwirtsch. 1900. No. 11. p. 161—166.)
Wortmann, J., Untersuchungen über das Bitterwerden der Rotweine. (Landwirtschaftl. Jahrb. 1900. Heft 4/5. p. 629—746.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

- Bissell, W. G.**, Incineration vs. earth sinks and chemical disinfection. (Med. record. Vol. LXVIII. 1900. No. 18. p. 684—688.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

- Bellot des Minières**, L'Eudemis botrana. (Vigne franç. 1900. No. 18. p. 280—282.)
Berlese, A., Insetti nocivi agli alberi da frutto ed alla vite. 8°. VIII, 183 p. Portici (Stab. tip. Vesuviano) 1900. 2,50 L.
Bonelli, A., La caccia alle farfalle come mezzo di distruzione delle tignole dell' uva. Conferenza. 8°. 18 p. Baroni (Tip. Borghi) 1899.

Inhalt.

Originalmitteilungen.

- Ehrens, J.**, Ueber die oxydierenden Bestandteile und die Fermentation des deutschen Tabaks. (Orig.), p. 1.
Jones, L. E., Bacillus carotovorus n. sp., die Ursache einer weichen Fäulnis der Möhre. (Orig.), p. 12.
Stoklass, Julius, Replik auf J. Behrens „Bemerkungen“ im Referate „Ueber neue Probleme der Bodenimpfung“. (Orig.), p. 22.

Referate.

- Hanuš u. Stocký**, Ueber die chemische Einwirkung der Schimmelpilze auf die Butter, p. 29.

Macfadyen, Allan, G. Harrie Morris u. **Sidney, Rowland**, Ueber ausgepreßtes Hefezellplasma (Buchner's Zymase), p. 25.

Pfeiffer u. Lemmermann, Denitrifikation und Stallmistwirkung, p. 23.

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Mohr, K., Versuche über die Bekämpfung der Blutlaus mittels Petrolwasser, p. 30.

Neue Litteratur, p. 30.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Prof. Dr. J. Behrens in Weinsberg i. W.,
Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Dr. v. Freudenreich in Bern, Privatdocent
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Dr. G. Harris Morris
in London, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädenswil, Dr. Erwin F. Smith in
Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr.,
Prof. Dr. Welmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel
und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg.

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VII. Band.

Jena, den 26. Januar 1901.

No. 2.

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

**Anhäufungsversuche mit Ureumbakterien.
Ureumspaltung durch Urease und durch Katabolismus.**

Von Prof. M. W. Beijerinck.

Mit 1 Tafel u. 4 Abbildungen im Text.

Für die gegenwärtige Entwicklungsphase der Mikrobiologie, welche die „systematische“ genannt werden kann, weil hier, wie bei jeder anfangenden Wissenschaft, das in der Natur vorhandene Material zunächst erkannt und übersichtlich angeordnet werden muß, — für diese Phase besitzen die „Anhäufungsversuche“ eine

besondere Wichtigkeit. Dieselben bezwecken, aus einem Gemenge von Mikroben diejenigen Arten und Varietäten, welche an gewisse, voraus bestimmte Lebensbedingungen adaptiert sind, in flüssigen Kulturmedien zur einseitigen Entwicklung zu bringen. Hierbei entstehen ähnliche Anhäufungen, wie solche in den natürlichen Fermentationen, sowie bei den Bakterienkrankheiten, aus deren Studium die neuere Bakteriologie sich entwickelt hat, gewissermaßen von der Natur selbst dargeboten werden. Alles Zufällige der letzteren bleibt jedoch bei den wissenschaftlichen Anhäufungen ausgeschlossen und wird ersetzt durch genau bestimmte Faktoren¹⁾.

Eine sehr bemerkenswerte Eigenschaft, sowohl der wissenschaftlichen, wie der natürlichen Anhäufungen, besteht darin, daß die Mikroben in denselben nicht in einer einzelnen Varietät vorliegen, wie das immer der Fall ist, wenn von einer Kolonie aus weitere Kulturen gemacht werden, sondern in allen denjenigen Varietäten, welche im Infektionsmateriale vorkommen, und bei den gewählten Bedingungen wachsen können. Wir lernen dadurch die Arten nicht nur in ihren vereinzelt Varietäten, sondern, was für die Artdiagnose von ganz besonderer Wichtigkeit ist, auch in Bezug auf ihre Variationsrichtung kennen. Letzteres ist so wichtig, daß man behaupten kann, es müsse jeder Mikrobendiagnose ein Anhäufungsversuch zu Grunde gelegt werden.

Infolge unserer sehr unvollständigen Kenntnis der Lebensbedingungen der meisten Mikroben können wir es jedoch, bei vielen Anhäufungen, bisher nicht weiter bringen als bis zu einer relativen Vermehrung der gewünschten Form, ohne daß die übrigen Arten dabei vollständig verschwinden, und oft ist auch diese Vermehrung nur an einem bestimmten Augenblicke der Versuche anzutreffen, während in früheren und späteren Stadien andere Formen vorherrschen. Demgemäß können die Anhäufungsversuche in „vollkommene“ und „unvollkommene“ unterschieden werden, wovon die ersteren auf eine einzelne Art, und zwar in allen darin vorkommenden Varietäten führen. Bisher sind nur eine geringe Anzahl solcher „vollkommener Anhäufungsversuche“ bekannt geworden, doch wird sich dieses künftig, mit dem Verbessern unserer Kenntnisse sicher ändern, denn es handelt sich hierbei um eine Frage, welche das Herz der Bakteriologie berührt. Es ist zu hoffen, daß dieses bald zu allgemeiner Anerkennung gelangt, denn das Arbeitsfeld ist ausgedehnt.

Gegenstand folgender Zeilen ist zunächst, einen solchen vollkommenen Anhäufungsversuch, welcher auf dem Gebrauch von Ureum beruht, zu beschreiben. Daran sollen weiter einige Erfahrungen geknüpft werden bezüglich der Ureumflora im allgemeinen, sowie über die Biochemie der Ureumspaltung.

Ich wurde bei dieser Untersuchung eifrig von Herrn A. van Delden unterstützt, welcher auch die Photographieen anfertigte.

1) Die Anhäufungsversuche sind nicht nur wissenschaftlich, sondern auch in pädagogischer Beziehung bedeutungsvoll. Eine Zusammenstellung derselben, so wie sie im bakteriologischen Praktikum meines Laboratoriums durchgeführt werden, beabsichtige ich später zu veröffentlichen.

1. Geschichtliches.

Obschon die Gegenwart von Ureum in den verschiedensten Nährsubstraten mit überraschender Leichtigkeit zur Anhäufung von gewissen Ureum spaltenden Bakterien Veranlassung giebt, hat bisher noch niemand versucht, darauf einen wissenschaftlichen Anhäufungsversuch zu gründen. Zwar könnte man, bei oberflächlicher Kenntnis der Litteratur, anderer Meinung sein, denn einer der ersten Untersucher der Ureumflora, van Tieghem, hat unzweifelhaft einer zielbewußten Anhäufung nachgestrebt¹⁾. Er stellte nämlich Urin, oder mit $1\frac{1}{3}$ Proz. Ureum versetztes Hefewasser, in offenen Gläsern der spontanen Infektion durch Luftkeime aus, wobei mehrere Formen der Verderbnis auftreten können und darunter, in vereinzelt Fällen, Zersetzung des Ureums mit Bildung von Ammoncarbonat. Von diesen letzteren Gläsern impfte er in neue Gläser mit der gleichen frischen Nährlösung und erhielt dabei intensivere Zersetzungs Vorgänge. Nun behauptet van Tieghem zwar, daß er in diesen Fällen ausschließlich Urokokkenkulturen vor sich hatte, in welchem Falle sein Versuch wirklich ein Anhäufungsversuch, und zwar ein vollkommener, genannt werden mußte. Als ich aber van Tieghem's Versuche genau nach seinen Angaben wiederholte, und in anderen Fällen selbst dadurch verbesserte, daß ich, anstatt dem allzu großen Zufall der Infektion aus der Luft freies Spiel zu geben, mit Bodestaub oder selbst mit faulem Urin direkt infizierte, d. h. also mit denjenigen Materialien, welche die Brutstätte und Ursprungsstelle der in der Luft vorkommenden aktiven Keime sind, so erhielt ich niemals das von van Tieghem beschriebene Resultat; zwar fand bei diesen Versuchen regelmäßig Ureumzersetzung statt, doch waren dabei, neben vielen inaktiven Saprophyten, verschiedene Arten von stäbchenförmigen Ureumbakterien, Urokokken dagegen jedenfalls nur in so unbedeutender Menge gegenwärtig, daß ich dieselben überhaupt nicht nachweisen konnte. Warum van Tieghem in solchen Kulturen nichts finden konnte, wie Ketten von Mikrokokken, wovon er einige Abbildungen giebt, ist mir nicht deutlich. Die Hauptbedingung für die wissenschaftliche Anhäufung von *Urococcus ureae* Cohn, worum es sich hier handelt, nämlich die richtige Verwendung einer niederen Temperatur, kannte er nicht.

So kommt es denn auch, daß der Monograph der Ureumbakterien, Miquel, welcher die Arbeit van Tieghem's genau kannte, durchaus keine Veranlassung fand, das von diesem angegebene Verfahren zu befolgen.

Miquel hat aber, trotz seiner jahrelangen Beschäftigung mit den Ureumbakterien, die hohe Bedeutung der Anhäufungsversuche überhaupt nicht verstanden, und merkwürdigerweise verwirft er selbst die natürlichen Anhäufungen der Ureumbakterien für deren Isolierung gänzlich. So liest man z. B. bei diesem Autor folgen-

1) Recherches sur la fermentation de l'urée et de l'acide hippurique. [Thèse No. 256]. Paris 1864. Hippursäure wird nicht durch Urease gespalten, dagegen wohl durch gewisse Bakterien selbst.

des¹⁾: „Wo müssen die Ureumfermente aufgesucht werden? Es könnte angezeigt erscheinen, dieselben aus fermentierten Urin oder aus den Abtrittswässern zu isolieren, kurz, sie an denjenigen Stellen zu suchen, wo ihre Gegenwart leicht durch den Geruch erkannt wird. Doch scheint mir dieses Verfahren ein fehlerhaftes . . . Ich meinerseits gebe den Vorzug darauf zu warten, bis die Ureumfermente sich zufällig in meinen Kulturen vorfinden, sei es bei der mikroskopischen Analyse der Gewässer, oder bei der bakteriologischen Untersuchung der Luft und des Bodens.“ Auf p. 17 seines Buches liest man weiter: „Ich sagte schon, daß es besser ist die Ammonfermente unter den gewöhnlichen Bakterien der Luft, der Gewässer und des Bodens zu suchen, wie dieselben aus verdorbenem Urin oder Abtrittswässern zu isolieren.“

Für die Erkennung der Ureummikroben bringt er die zu untersuchenden Kolonien auf Fleischbouillongelatine mit 2-proz. Ureum, worin von den Ureumspaltern Calciumkarbonat gebildet wird, welches als weißes Krystallpulver, in oder nahe bei den Kolonien oder Strichen zur Ablagerung gelangt, was bei den gewöhnlichen Arten nicht stattfindet. Auf einen solchen Boden streicht er nun, für so weit ich ihn verstehe, alle mögliche Mikroben, welche er auf irgend eine Weise findet, ab, bis er darunter eine Ureumbakterie findet, was natürlich ein außerordentlich zeitraubendes Verfahren ist.

Miquel gründet sich, zur Verteidigung seiner umständlichen Methode, auf die Schwierigkeit, aus den genannten Flüssigkeiten die schwächer auf Ureum einwirkenden Formen zu erhalten, weil dieselben vollständig von den stärkeren verdrängt werden, während allerlei nicht spaltende Arten übrig bleiben und das Isolieren der eigentlichen Ureumbakterien erschweren.

Bei meinem unten zu beschreibenden Anhäufungsversuche fallen diese Argumente jedoch vollständig aus, denn erstens werden dabei anfangs eine Reihe von schwächeren, und schließlich auch die stärkeren Formen zur Entwicklung gebracht, und zweitens werden vom Anfange des Versuches an, eben durch die Gegenwart des Ureums, alle nicht spaltenden Arten in ihrer Entwicklung zurückgehalten und später in der Konkurrenz mit den Ureumspaltern gänzlich verdrängt. Vorgreifend will ich hier schon bemerken, daß ich dieses Resultat der Beobachtung verdanke, daß die meisten echten Ureumspalter, selbst die schwächeren, viel höhere Ureumkonzentrationen in ihren Nährlösungen vertragen, als wie sie selbst zerlegen, und auch eine viel höhere Konzentration an Ammonkarbonat als wie sie selbst erzeugen können, und weiter, daß die gewöhnlichen, Ureum nicht spaltenden Arten, wenigstens die große Mehrheit davon, den hohen Konzentrationen von Ureum und Ammonkarbonat gegenüber empfindlicher sind, wie die Urobakterien selbst, was jedoch von Miquel ganz bestimmt widersprochen wird:

1) Étude sur la fermentation ammoniacale et les ferments de l'urée. p. 13. Paris. 1898.

Auch die übrigen Forscher, welche sich mit den Ureumbakterien beschäftigt haben, wie von Jacksch, Leube und Sheridan Lea, haben ebensowenig Anhäufungsversuche mit denselben angestellt wie Miquel.

Anhäufungsversuche, welche auf bestimmte Arten führen, und derweise beschrieben sind, daß sie überall mit gutem Erfolge wiederholt werden können, liegen also in Bezug auf die Ureumbakterien bisher nicht vor.

2. Ueber Anhäufungsversuche mit Ureum im allgemeinen.

Bei einer systematischen Verfolgung dieses Gegenstandes stellte sich zunächst heraus, daß das Ureum allein mit den nötigen Phosphaten und Nährsalzen aber ohne eine andere Kohlenstoffquelle, niemals von Mikroben zersetzt wird. Impft man also eine Ureumlösung in Leitungswasser, worin außerdem eine genügende Menge Kaliumphosphat vorkommt, mit willkürlichen Materialien, welche Ureumbakterien enthalten, so ist darin nicht nur durchaus keine Ureumspaltung, sondern überhaupt keine Mikrobenentwicklung zu beobachten.

Die Hinzufügung einer anderen beliebigen Kohlenstoffquelle, welche jedoch nicht zu den aromatischen Körpern gehören darf, zu diesem Gemisch macht davon eine Nährlösung für Ureumspalter. Selbst die schlechteste Kohlenstoffquelle, welche es überhaupt für die Ernährung der Mikroben giebt, nämlich die Oxalsäure, ist davon keine Ausnahme. So fand ich in einer Lösung von folgender Zusammensetzung

100 Leitungswasser
5 Ureum
1 Ammonoxalat
0,025 KH^2PO^4

welche mit Gartenerde infiziert und 10 Tage bei 30°C gehalten wurde, etwas mehr als 2 Proz. des Ureums umgewandelt¹⁾.

Das gleiche Resultat wurde erhalten, wenn das Ammonoxalat durch 1 Proz. Natriumacetat ersetzt wurde, so daß offenbar das Ureum das Stickstoffbedürfnis gewisser Ureummikroben sehr gut befriedigen kann.

Wurde das Ammonoxalat durch 1 Proz. Seignettesalz (Kalium-Natriumtartrat) ersetzt, so wurden schließlich ebenfalls 2 Proz. des Ureums in Ammonkarbonat verwandelt. Wurde dafür 1 Proz. Ammoncitrat gewählt, so verschwanden 3 Proz. und endlich, mit Ammonmalat, 4 Proz. des ursprünglich gegenwärtigen Ureums. Dabei wurden in jedem Falle eine oder zwei bestimmte, für die Kohlenstoffquelle, wie es scheint, charakteristische Ureumbakterienformen erhalten, welche auch bei weiterer Ueberimpfung in der gleichen Nährlösung Konstanz zeigten.

1) Für Betrachtungen und Versuche von ziemlich allgemeiner Bedeutung über den Nährwert einer Verbindung und ihre chemische Struktur, siehe F. J. Dupont und S. Hoogewerff. Maandblad voor Natuurwetenschappen. Jahrg. 6. 1876. p. 1. Doch erfährt ihre Ansicht, daß weder Ureum noch Ammonoxalat assimiliert werden, durch die Ureumbakterien, wie man sieht, eine Einschränkung.

Wie man sieht, wurde in keiner der genannten Lösungen die 5 Proz. Ureum völlig gespalten, und offenbar liegt irgend eine Beziehung vor zwischen dem Nährwerte der dargebotenen Kohlenstoffquelle und der Quantität des gespaltenen Ureums.

Wurde der ursprünglich angegebene Ureumgehalt unter die jemals spaltbare Menge herabgedrückt, so fand völlige Umwandlung statt. Diese wurde ebenfalls beobachtet in von Jack'scher Lösung (100 derselben enthalten 0,025 KH^2PO^4 , 0,005 MgSO^4 , 0,5 Seignettesalz, 0,1 Ureum)¹⁾ und in 100 Leitungswasser, 0,09 KH^2PO^4 , 0,2 $\text{CO}^2(\text{NH}^4)^2$, 0,25 Asparagin, 1 Ureum, beide mit Gartenerde infiziert und 10 Tage bei 28° C aufbewahrt.

Bei der bakteriologischen Untersuchung dieser Flüssigkeiten hat sich herausgestellt, daß in keinem Falle in denselben diejenigen Bakterienarten vorkommen, welche bei günstigeren Ernährungsbedingungen imstande sind, viel höhere Ureumgehalte in Ammonkarbonat umzuwandeln, nämlich *Urobacillus pasteurii* und *Urococcus ureae*. Verwendete ich dagegen von vornherein eine solche viel bessere Nährlösung, worin neben dem Ureum noch zugleich eine vorzügliche Kohlenstoff- und Stickstoffquelle gesondert vorlagen, nämlich Fleischbouillon, so konnten bei der gleichen Infektion mit Gartenerde nicht weniger wie 10—12 Proz. Ureum in wenigen Tagen zum vollständigen Verschwinden gebracht werden.

Dieses bemerkenswerte Resultat hat mich veranlaßt, die letztere Versuchsanstellung einem eingehenden Studium zu unterwerfen, wobei sich zunächst herausstellte, daß am Schlusse desselben eine Reinkultur der stärksten aller Ureumbakterien, *Urobacillus pasteurii* Miquel, resultiert, während ich ferner fand, daß in den Vorstufen dieser Reinkultur eine Reihe schwächerer Ureumspalter vorübergehend, aber mit großer Regelmäßigkeit auftreten, so daß alle diese Bakterien außerordentlich weit verbreitet und in unserer Umgebung sehr allgemein sein müssen, obschon dieselben bisher nur wenig Beachtung gefunden haben, oder ganz unerkannt geblieben sind.

Ehe ich aber diesen Versuch näher beschreibe, einige Worte über den qualitativen und quantitativen Nachweis der Ureumspaltung an und für sich.

3. Nachweis der Ureumzersetzung.

Die „Iriserscheinung“.

Für das regelmäßige Verfolgen dieser Umwandlung in den Kulturflüssigkeiten ist es zureichend, das verschwundene Ureum durch Titrieren des daraus gebildeten Ammonkarbonats zu bestimmen. Nach der Formel $\text{CH}^4\text{N}^2\text{O} + 2 \text{H}^2\text{O} = \text{CO}^2(\text{NH}^4)^2$ erzeugen 60 g Ureum 90 g Ammonkarbonat. Werden letztere gelöst, so sind 2000 cm³ Normalsäure nötig für die Neutralisation. Wenn also 100 cm³ einer ursprünglich neutralen ureumhaltenden Kulturflüssigkeit 100 cm³ Normalsäure zur Neutralisation erfordern, so zeigt dieses an, daß genau 3 g Ureum in 4,5 g Ammonkarbonat

1) Zeitschr. f. physiolog. Chemie. Bd. V. 1881. p. 395.

umgewandelt sind; 1 Proz. verschwundenes Ureum entspricht also ca. 33,3 cm³ Normalsäure. Für das Ammonkarbonat kann angenommen werden, daß 1 g ca. 22 cm³ Normalsäure zur Neutralisation erfordert. Das käufliche Salz ändert jedoch seine Zusammensetzung durch das Aufbewahren, wobei saueres Ammonkarbonat (CO²NH⁵), Sesquikarbonat (C³O³N⁴H¹⁸) und Ammonkarbammat (CO²N²H⁶) entstehen. Dadurch verändert die Alkalität, so daß z. B. in dem von mir verwendeten Ammonkarbonat 1 g nicht mit 22 cm³, sondern mit 15 cm³ Normalsäure neutralisiert wurde. Natürlich muß damit gerechnet und beim Gebrauch das sogenannte „Ammonkarbonat“ vorher titriert werden.

Obschon bei den Versuchen mit Ureumbakterien immer ziemlich viel Karbonat durch Verdunsten aus den mit Baumwolle verschlossenen Kulturkolben verloren geht, beeinträchtigt dieses die Genauigkeit der Beurteilung nur wenig, denn es handelt sich dabei um Zehn-, ja Hundertzahlen von Kubikcentimetern Normalsäure, die notwendig sind für die Neutralisation von 100 cm³ der Kulturflüssigkeit. Auch ist die Verdunstung desto geringer, je weniger konzentriert die Lösungen sind, so daß die Fehler bei den schwächer wirkenden Urobakterien auch viel kleiner werden, wie bei den stärkeren Formen.

Das Reagieren auf An- oder Abwesenheit von Ureum in Fleischbouillon geschieht im bakteriologischen Laboratorium auf eine sehr einfache Weise, welche auf dem Gebrauch von Ureumbakterien oder von Urease beruht. Die zu untersuchende Lösung, — gewöhnlich eine in Zersetzung begriffene ureumhaltige Nährlösung, wovon man ermitteln will, ob noch unzersetztes Ureum gegenwärtig ist, — wird, wenn Ammonkarbonat gegenwärtig ist, mit Salzsäure neutralisiert und bei hohem Karbonatgehalt nachher mit Wasser verdünnt, um den Salzgehalt herabzusetzen, welcher die fernere Ureumspaltung verlangsamen könnte. Es wird dann eine reichliche Menge Ureumbakterien (am besten *Urobacillus pasteurii* oder *Urococcus ureae*) zugesetzt und ins Wasserbad bei 45—50° C gestellt. Wenn noch Ureum gegenwärtig ist, entsteht nach 1—2 Stunden neues Ammonkarbonat, welches titriert werden kann.

Für die Feststellung, ob einzelne Bakterienkolonien imstande sind Ureum zu spalten oder nicht, und, wenn überhaupt, mit welcher Intensität sie das dann ungefähr thun, erhält man mit Hilfe eines festen Kulturbodens am schnellsten ein Resultat.

Oben wurde schon gesagt, daß Herr Miquel dafür Fleischgelatine mit 2 Proz. Ureum verwendete, worauf die ureumspaltenden Kolonien kenntlich werden durch die Erzeugung von Calciumkarbonat als Krystallpulver.

Die Ablagerung dieser Krystalle findet jedoch erst nach vielen Stunden statt und überdies sehr unregelmäßig, abhängig von den übrigen in der Kulturgelatine gegenwärtigen Substanzen, und von anderen oft unbekanntem Nebenbedingungen, wodurch das Verfahren zeitraubend und unsicher wird.

Ich erkannte in Hefewassergelatine, mit 2 oder 3 Proz. Ureum

versetzt, ein viel besseres Medium zur Erreichung des genannten Zweckes, weil dabei schon nach wenigen Minuten das Ziel erreicht ist, und zwar durch das Hervortreten einer eigentümlichen, sehr zierlichen Reaktion, welche ich die „Iriserscheinung“ nennen will.

Für diese Versuchsanstellung muß das Hefewasser konzentriert sein und bereitet werden durch Sieden von ca. 20 g Preßhefe in 100 cm³ Wasser. Das nach der gewöhnlichen Vorschrift bereitete Hefewasser (20 g Hefe pro 1000 cm³ Wasser) giebt die Iriserscheinung mit der gewöhnlich im Handel vorkommenden Gelatine überhaupt nicht¹⁾.

Gießt man von solcher richtig bereiteten Hefewasserureumgelatine eine Platte, und bringt darauf ein Partikelchen Ammonkarbonat oder eine Kolonie einer ureumspaltenden Bakterie, so präcipitiert nicht Calciumkarbonat allein, sondern, wie ich glaube, dieser Körper gemischt mit Calciumphosphat²⁾. Das Präcipitat hat zwei sehr bemerkenswerte Eigenschaften: Es ist völlig amorph und lagert sich zunächst nur ausschließlich in der Oberfläche der Gelatine ab, und zwar in so dünner Schicht, daß darin Newton's Farbenringe in großer Schönheit sichtbar werden. Da diese Schicht allmählich dicker wird und dabei auch peripherisch wächst, findet ein langsamer und regelmäßiger Farbwechsel der Ringe, sowie eine Ausdehnung derselben statt. Nach einiger Zeit entsteht auch in der Tiefe der Gelatine ein amorpher weißer Niederschlag, welcher infolge der Bildungsweise die Gestalt einer plankonvexen Linse annimmt; dabei geht aber die Farbenpracht der Oberfläche nicht verloren. Das Farbenfeld kann einen großen Umfang erreichen und leicht Gelatineflächen von mehreren Decimetern bedecken. Die Ausdehnungsschnelligkeit desselben steht in direktem Zusammenhang mit der Intensität der Ureumspaltung, also mit der Aktivität des untersuchten Bakterienmaterials.

Nichtspaltende Bakterien sind auf dieser Gelatine ohne Einwirkung.

Eine genügende chemische Erklärung der Iriserscheinung vermag ich zur Zeit noch nicht zu geben. Wahrscheinlich handelt es sich dabei um eine Verbindung von Calciumphosphat mit einer organischen Substanz, vielleicht ein Proteinkörper, welche Verbindung durch freie Kohlensäure zunächst gelöst gehalten bleibt und beim Verdunsten davon an der Oberfläche in dünner Schicht ausfällt. Hier will ich noch bemerken, daß nicht nur Ammonkarbonat, sondern auch Natriumkarbonat, auf eine Hefewassergelatineplatte gebracht, die Iriserscheinung verursacht, nicht aber Dinatriumphosphat, und daß die verwendete Hefegelatine sehr schwach sauer reagiert, so

1) In einzelnen Fällen habe ich aber Handelsgelatine zur Verfügung gehabt, welche mit Ammonkarbonat die Iriserscheinung an und für sich gab, unabhängig von der Flüssigkeit, worin dieselbe gelöst wurde. In solchen Gelatinemustern muß also die Substanz, auf deren Gegenwart die Erscheinung beruht (wahrscheinlich Calciumphosphat in organischer Bindung), in einem ähnlichen Zustande vorkommen, wie sie anders aus der Preßhefe erhalten wird, und voraussichtlich wird eine richtig angefertigte Knochenextraktgelatine ebenfalls die Iriserscheinung ergeben können.

2) Wahrscheinlich aus Calciumkarbaminat ($\text{CaC}^*\text{O}^*\text{N}^*\text{H}^*$) als Vorstufe.

daß das Freiwerden von Kohlensäure bei der Iriserscheinung nicht unwahrscheinlich ist.

Aus dieser Darstellung geht hervor, daß Hefewassergelatine auch ein geeigneter Indikator ist, um, vermitteltst Urease, qualitativ Ureum nachzuweisen. Dazu wird, wie folgt, verfahren.

Die etwas eingedunstete und dadurch konzentrierte Hefewassergelatine wird mit ungefähr ebensoviel der auf Ureum zu untersuchenden Flüssigkeit versetzt, wie Wasser daraus verdunstet ist. Es wird zu einer Platte ausgegossen und erstarren gelassen. Wird nun darauf lokal das Enzym Urease gebracht oder irgend eine ureasehaltige Bakterienkultur, z. B. *Urobacillus pasteurii*, oder die so leicht in den Sammlungen zu haltenden gewöhnlichen Urokokken (*Urococcus ureae* Cohn), welche gut auf gewöhnlicher Fleischgelatine wachsen und dann sehr reich an Urease sind, so wird, im Falle Ureum gegenwärtig ist, die Iriserscheinung rings um die Urease oder das Bakterienmaterial nach einige Minuten sichtbar werden. Andere Substanzen, außer Ureum, welche imstande sein sollten, die Erscheinung hervorzurufen, sind nicht bekannt.

Man kann den gleichen Zweck auch dadurch erreichen, daß die noch flüssige Hefewassergelatine nicht mit der auf Ureum zu untersuchenden Flüssigkeit, sondern mit Urease oder mit Ureumbakterien in großer Menge versetzt wird. Wird diese Ureasehefegelatine zu einer Platte ausgegossen, so wird ein darauf gebrachter Tropfen einer Ureumlösung die Iriserscheinung erzeugen. Natürlich läßt sich auf diese Weise nicht so leicht eine beträchtliche Menge einer nur wenig Ureum haltigen Lösung untersuchen, wie nach dem ersten Verfahren, jedoch kann mit Hilfe der Ureaseplatte leicht eine große Anzahl Versuchskölbchen verglichen werden, vorausgesetzt, daß der Ureumgehalt darin nicht sehr gering ist. Quantitative Schätzungen sind nach beiden Methoden möglich.

4. Anhäufung von *Urobacillus pasteurii* Miquel.

Ich gehe nun an die Besprechung desjenigen Versuches, welcher mir das Ende § 2 genau bezeichnete Resultat gegeben hat. Derselbe ist sehr einfach: Zu Fleischbouillon, wie gewöhnlich angefertigt, wird 10 Proz. Ureum zugesetzt und gekocht, wobei eine sehr schwach alkalische Lösung entsteht. Es wird mit frischer oder mit pasteurisierter Gartenerde infiziert und bei 23—30° C kultiviert. Dabei ist bisher ausnahmslos, nach einer ungleichen Anzahl von Tagen, eine Kultur von *Urobacillus pasteurii* entstanden, anfangs von mehreren anderen Ureumbakterienarten begleitet, schließlich aber als „Reinkultur“ übrig bleibend.

Die Ureumzersetzung ist bei dem Versuche ziemlich gleichförmig und zuletzt immer vollständig. Dieses ist auch noch der Fall, wenn anstatt 10 Proz. 11 oder 12 Proz. Ureum verwendet wird; bei noch höherem Ureumgehalte bleibt ein Teil desselben unzersetzt, bei 20 Proz. werden höchstens nur noch 4 Proz. Ureum in Karbonat verwandelt.

Ich will von vielen Versuchen einen anführen, um zu zeigen, wie der Verlauf der Ureumspaltung sich verhält. Da die Geschwindigkeit der Umwandlung bei der Optimumtemperatur, welche bei 30° C liegt, eine sehr schnelle ist, wurde zur Einschränkung derselben bei ca. 23° C kultiviert. Die Gehalte an Ammonkarbonat werden hier, wie immer, in Kubikcentimetern Normalsäure angegeben, notwendig zur Neutralisation von 100 cm³ der Kulturflüssigkeit.

12. April: Infektion mit frischer Gartenerde, Anfangs-

	titer	0,5 cm ³
19. "	Titer	32 "
23. "	"	106 "
24. "	"	280 "

Das Ureum ist nun völlig verschwunden und es hat sich nicht weniger wie 13,44 Proz. Ammonkarbonat angehäuft. Da 10 Proz. Ureum 333 cm³ Normalsäure entsprechen, ist 1²/₃ Proz. Ureum durch Verdunstung als 2,5 Proz. Ammonkarbonat verloren gegangen, so daß im ganzen 16 Proz. Ammonkarbonat gebildet ist. Trotz dieses beträchtlichen Verlustes kann man den Versuch durchaus nicht ungenau nennen. Wäre es erwünscht, so könnte übrigens leicht eine größere Genauigkeit erreicht werden, das ist jedoch für unseren Zweck unnötig. Ist einmal die Zersetzung im Gange, so kann, wie gesagt, durch Erhöhung der Temperatur bis auf 30° C die Geschwindigkeit der Umwandlung sehr erhöht, die Umwandlungszeit also verkürzt werden.

Am Ende des Versuches ist der Bakteriengehalt der Flüssigkeit anscheinend gering und besteht aus sehr dünnen Stäbchen, worin ganz vereinzelt runde Sporen vorkommen, alle für soweit lebend und entwicklungsfähig, zu *Urobacillus pasteurii* gehörig, weil im Laufe des Versuches die anderen zahlreichen Bakterienarten, welche sich anfangs mit jener Art parallel entwickelt haben, gänzlich, — vielleicht nur mit Ausnahme der Sporen dieser Arten, — verdrängt und abgestorben sind.

Der Versuch behält denselben Charakter, wenn der Ureumgehalt bis zu 13 Proz. erhöht wird. Dabei wurde bis zu 340 cm³ Normalsäure pro 100 cm³ der Lösung titriert, welches 11,2 Proz. umgewandeltem Ureum und 16,34 Proz. Ammonkarbonat entspricht. Da auch in diesem Falle völlige Umwandlung des Ureums stattgefunden hat, sind also 4,46 Proz. Ammonkarbonat verdunstet, welche 93 cm³ Normalsäure entsprechen, so daß, wenn kein Ammonkarbonat verdunstet wäre, die Alkalität nicht 340, sondern 433 geworden sein würde.

Wie aus der im allgemeinen sehr ungleichen Anzahl bei solchen Rohinfektionen zur Aussaat kommenden Einzelkeimen der Ureumbakterien zu erwarten war, ist der Eintritt des Augenblickes, wo die Ureumzersetzung zuerst bemerkbar wird, sehr verschieden. So wurde von 5 bei 23° C verlaufenden Versuchen der Beginn der Umwandlung bemerkt:

	Nach 2 Tagen bei 3 Versuchen
" 4	" " 1 Versuche
" 5	" " 1 "

In allen diesen, sowie in anderen mit 10 Proz. Ureum angestellten Versuchen, wurde die vollständige Umwandlung, wenn letztere nur einmal begonnen war, mit dem Endtiter von 280 bis 290 cm³ Normal, welches also $8\frac{1}{3}$ Proz. noch als Ammonkarbonat gegenwärtiges und $1\frac{2}{3}$ Proz. verschwundenes Ureum anzeigt, mit nahezu gleicher Schnelligkeit erreicht, was dadurch zu erklären ist, daß in den späteren Phasen immer die gleiche Bakterie, *U. pasteurii*, die Hauptarbeit verrichtet.

Wie schon früher gesagt, kann unser Versuch auch mit pasteurisierter Gartenerde ausgeführt werden, weil *U. pasteurii*, sowie mehrere Arten der „Vorflora“, Sporen besitzen, welche einer Temperatur von 95° C auf kurze Zeit, Temperaturen von 80–90° C sehr lange widerstehen können. In diesem Falle läßt der Eintritt der Ureumspaltung länger auf sich warten, als wenn frische Erde als Infektionsmaterial verwendet wird, was offenbar auf dem Absterben der sporenfreien (z. B. von *Urobacillus miquelii*) und der vegetativen Zustände der sporenbildenden Arten beruht, welche neben den Sporen im Boden vorkommen. Auf diese Verschiedenheit wird später zurückgekommen werden.

Für die Erkennung und Unterscheidung der Ureumbakterien hat Miquel zunächst die gewöhnliche Verteilung in Mikrokokken und Bacillen aufgestellt, wobei er dann die physiologischen Gattungsnamen *Urococcus* mit 9 und *Urobacillus* mit 8 Arten verwendet¹⁾, was bei unseren gegenwärtigen ungenügenden Kenntnissen der wirklichen Verwandtschaften nicht unpraktisch ist. Für die weitere Einteilung beruft er sich dann auf die Intensität der Ureumspaltung und auf die Quantität Ureum, welche überhaupt gespalten werden kann, was zu vergleichen ist mit der Gärkraft und dem Vergärungsgrad bei den Alkoholhefen. Hier wie dort werden dadurch sehr wertvolle Zahlen für eine definitive Diagnose erhalten, und es steht fest, daß man auch in vielen anderen Fällen von ähnlichen, in Zahl und Maß anzugebenden Eigenschaften, für die Diagnose der Mikroben mit Vorteil wird Gebrauch machen können. Doch legt Miquel, nach meiner Ansicht, viel zu wenig Wert auf die Natur der von den verschiedenen Urobakterien assimilierbaren Stickstoff- und Kohlenstoffquellen, welche, wie ich schon in § 1 gesagt habe, so verschieden sind, daß darauf bestimmte Anhäufungsversuche basiert werden können, welche zu sehr verschiedenen Arten führen.

Es würde mich zu weit führen, die nicht unbeträchtliche Zahl von Formen, welche bei meinem Versuche ziemlich regelmäßig auftreten, alle zu besprechen; ich werde mich darauf beschränken, einige davon auszuwählen, welche sowohl durch die Regelmäßigkeit, womit sie erhalten werden, wie durch ihre physiologischen Merkmale besonders auffallen. Zunächst habe ich in dieser Beziehung zu erwähnen *Urobacillus pasteurii* selbst, welcher

1) Auch stellt Miquel noch eine Gattung *Urosarcina* mit einer Art auf. Diese Art ist jedoch durchaus keine *Sarcina*, sondern ein *Bacillus*. Die echten ureumspaltenden *Sarcinen*, welche ich unten kurz anführen werde, kannte Miquel überhaupt nicht.

durch die außerordentliche Aktivität seiner Wirkung in Bezug auf Ureum alle anderen Arten weit hinter sich läßt, und sowohl durch seine unerwartete Allgemeinheit überall in Staub und Erde, sowie durch die Unkultivierbarkeit auf den gewöhnlichen Platten, allgemeines Interesse beansprucht. Ich werde dann 2 Bacillen besprechen, welche im Anfang in den Kulturen besonders allgemein, aber nach einander, vorkommen und später durch *Pasteurii* verdrängt werden. Die zuerst entstehende Art, welche keine Sporen erzeugt, wird *Urobacillus miquelii*, die später auftretende, sporenbildende, wird *U. leubei* genannt werden. Schließlich werde ich eine sehr interessante bewegliche *Sarcina* beschreiben, welche Sporen erzeugt, und deshalb beim Pasteurisieren des Untersuchungsmaterials lebend zurückbleibt; ich bezeichne dieselbe als *Planosarcina ureae*¹⁾. Als einmal bei dieser Art die Sporen aufgefunden waren, konnte ich leicht nachweisen, daß auch gewisse andere, unbewegliche *Sarcinen* Sporen erzeugen. Eine davon, welche ebenfalls Ureum zerlegt, werde ich unten in Note 1, § 8 etwas näher betrachten.

5. Beschreibung von *Urobacillus pasteurii* Miquel.

Diese kräftigste aller Ureumbakterien wurde im Jahre 1887 von Herrn Miquel entdeckt und derweise beschrieben, daß deren Wiedererkennung möglich ist²⁾. Die Art ist übrigens, trotz ihrer Allgemeinheit und Wichtigkeit, wenig bekannt geworden, weil sie auf den gewöhnlichen Kulturböden durchaus nicht wächst. Das Wachstum wird erst ermöglicht durch die Gegenwart von freiem Ammonkarbonat, und da der Gehalt an diesem Körper sehr hoch sein kann, ohne für die Bakterie nachteilig zu werden, kann durch Hinzufügung einer genügenden Quantität davon an Fleischbouillon-gelatine ein Kulturboden geschaffen werden, welcher wohl dieser, sowie den anderen Urobakterien, jedoch nur sehr wenigen gewöhnlichen Saprophyten das Wachstum ermöglicht. Wird dem Kulturboden überdies Ureum zugesetzt, so findet anstatt einer Verminderung durch Verdunsten eine Vermehrung des Karbonats während des Versuchs statt und dadurch wird es möglich, die schwächeren Ureummikroben in ihrem Wachstum zu hemmen und *Pasteurii* (und *U. leubei*) allein fortwachsen zu lassen. Ich verwende für die Kultur von *U. pasteurii* Fleischgelatine mit 0,3 Proz. Ammonkarbonat und 2 Proz. Ureum, wodurch zu Anfang 100 cm³ ca. 6 cm³ Normalsalzsäure titrieren.

Vermittelst dieses Kulturbodens läßt sich genau bestimmen, in welchem Augenblick bei den Anhäufungsversuchen *U. pasteurii* zuerst auftritt. Dieser Augenblick fällt mit dem Beginn der Ureumspaltung, welche übrigens bei den Anhäufungen nicht durch *U. pasteurii* selbst, sondern durch andere Arten eingeleitet wird, zusammen. Bemerkenswert ist, daß schon Wachstum von *U.*

1) Die Gattung *Planosarcina* wurde aufgestellt von Migula. System der Bakterien. Bd. II. 1900. p. 275. Ich schließe mich bei seiner Umgrenzung an.

2) Fermentation ammoniacale. p. 39.

pasteurii da ist, wenn nur noch so wenig Ammonkarbonat gebildet ist, daß eine ebenso starke alkalische Kulturgelatine kein Wachstum ermöglichen würde, nämlich 0,5–1 cm³ pro 100 cm³ Lösung. Dieses ist wahrscheinlich die Folge des hohen Ureumgehaltes der Flüssigkeit, welche in einer Kulturgelatine (oder Agar) nicht möglich ist, weil 10 Proz. Ureum das Erstarrungsvermögen aufhebt. Auch darauf beruht es, daß *U. pasteurii* sehr gut in Reinkultur, in Fleischbouillon, mit 10 Proz. Ureum, ohne absonderliche Zusetzung von Ammonkarbonat wachsen kann, so daß die Ureumspaltung darin von dieser Bakterie selbst eingeleitet werden muß.

Die Kolonien von *U. pasteurii* auf dem festen Ureum-Ammonkarbonatboden sind anfangs flach ausgebreitet, durchsichtig und glasartig, und zeichnen sich vor anderen Arten dadurch aus, daß sie lange Zeit wachsen und dabei schließlich eine ansehnliche Größe erreichen, nach 2 oder 3 Wochen, auf ausgedehnten nahrungsreichen Platten, z. B. 2–3 cm Mittellinie. Gewöhnlich verflüssigt die Gelatine nach längerer Zeit etwas, zuerst in der Mitte der Kolonie. Bisweilen findet man Kolonien, welche von Anfang an stark verflüssigen und welche man zunächst für eine besondere Art halten könnte. Dieselben unterscheiden sich jedoch nur dadurch von den weniger verflüssigenden Formen, daß sie außerordentlich reich an Sporen und, deshalb, an toten, vegetativen Bakterien sind, weil die Stäbchen bei der Sporenbildung absterben. Die toten Stäbchen sind es aber, welche die Verflüssigung herbeiführen¹⁾. Beim wiederholten Ueberimpfen geht das Vermögen zur excessiven Sporenbildung, und damit zugleich dasjenige zur Verflüssigung verloren. Dieses beruht darauf, daß man ohne bestimmte Fürsorge, stets mehr vegetative Stäbchen wie Sporen überimpft, und viele dieser Stäbchen das Vermögen zur Sporenbildung vollständig verlieren. Wird das überimpfte Material zuvor pasteurisiert, so daß nur Sporen zur Aussaat kommen, so bleibt die Sporenbildung, und deshalb die übergeimpfte Kultur völlig konstant²⁾.

Die Dicke und Länge der Stäbchen ist sehr verschieden, je nach den Kulturböden. In den flüssigen Kulturen in Fleischbouillon mit 10 Proz. Ureum sind dieselben erst dicker und beweglich, später sehr lang und dünn und bewegungslos. Auf Fleischagar, 2 Ureum, 0,3 Ammonkarbonat, sind sie ziemlich lang, z. B. 4–5 μ , während die Dicke 1,5 μ erreichen kann, wobei viele clostridiumartige Formen auftreten (Holzschn. Fig. 1, Taf. Fig. 1

1) Aehnliches findet man auch bei vielen anderen sporenbildenden Bakterien und ebenfalls bei mehreren Alkoholhefen, z. B. bei *Schizosaccharomyces octosporus*, worauf ich für weitere Details verweise (Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. III. 1897. p. 521). Nach meiner Ansicht handelt es sich in solchen Fällen um eine nicht aus der lebenden, wohl aus der toten Zelle nach außen diffundierende Modifikation des Trypsins.

2) Schon seit Jahren wird dieses Verfahren in meinem Laboratorium befolgt, um auch allerlei andere sporenbildende Bakterien konstant zu halten. Daß dadurch auch bei den Hefen die Variation vorgebeugt werden kann, habe ich 1898 gezeigt in diesem Blatte 2. Abt. Bd. IV. p. 657. Die Regel hat eine bedeutende Tragweite und gilt auch für andere Abteilungen des natürlichen Systems.

und 2). Solange nur wenig Karbonat da ist, ist die Beweglichkeit groß; die Cilien sind zahlreich und bedecken die ganze Oberfläche; sie können die Stäbchen 10mal an Länge übertreffen.

Die Sporen sind vollständig kugelig und messen ca. $1\ \mu$. Sie können auf kurze Zeit Siedehitze ertragen, sterben jedoch bei längerer Erhitzung, nicht nur bei Siedehitze, sondern schon bei 90°C . Wünscht man also mit Erde Versuche anzustellen, wobei *U. pasteurii* lebendig bleibt, so soll entweder mit frischer oder nicht höher wie auf $80\text{--}90^\circ\text{C}$ pasteurisierte Erde infiziert werden.

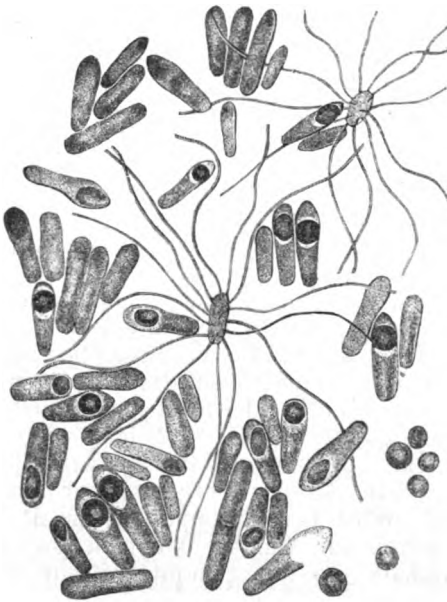


Fig. 1. *Urobacillus pasteurii* Miquel. In der Mitte und oben rechts sind die Cilien in ihrer wahrscheinlichen Gestalt am lebenden Bakterienkörper dargestellt. Alles übrige genau nach dem Leben. Rechts unten 6 vereinzelt kugelige Sporen. Vergr. 2580.

schnelle Fermentation mit dieser Bakterie einleiten will, so brüte man bei 40°C . Wünscht man dagegen in erster Linie Wachstum, so kultiviere man bei 30°C .“ Natürlich hängt hierbei alles ab von der Menge der für die Aussaat verwendeten Bakterien.

In Bezug auf die Intensität der Ureumzersetzung sagt Miquel, das *Pasteurii* bei 30°C und bei übrigens auch anderen günstigsten Bedingungen, pro Stunde und pro Liter in maximo $3\ \text{g}$ spalten kann. Bei meinen Versuchen bei 30°C fand ich als

Junge, sporenfreie Kulturen machen durch ihre Dimensionen und Beweglichkeit den Eindruck von Heupilzen.

Das Wachstumsoptimum liegt, wie bei so vielen sporenbildenden Bacillen, ziemlich hoch, wahrscheinlich bei 32°C in Fleischbouillon mit einem geringen Ureeingehalt. Das Maximum liegt etwas unterhalb 45°C , das Minimum unter allen Umständen oberhalb 6°C , und bei den gewöhnlichen Kulturbedingungen oberhalb 10°C ¹⁾.

Weil das Optimum der Ureasewirkung unweit 50°C liegt, also beträchtlich höher wie das Wachstumsoptimum, bemerkt Miquel:

„Wenn man eine

1) Man vergl. übrigens die Angaben Miquel's (l. c. p. 62).

Maximumsgeschwindigkeit 3,3 g gespaltenes Ureum pro Stunde und Liter, welche höhere Zahl vielleicht damit zusammenhängt, daß Miquel seine Kulturlösungen immer oberhalb 100° C sterilisierte, während ich nur kochte, weil das Sterilisieren hier unnötig ist, und beim einfachen Kochen bleibt der Nährwert der Lösungen bekanntlich besser wie beim Sterilisieren. Um dieses Resultat zu erreichen, darf der Ureumgehalt jedoch 12 Proz. nicht übersteigen (Miquel sagt 13 Proz.), weil anders diese Schnelligkeit vermindert wird. In Lösungen mit 20 Proz. Ureum konnte ich nur ca. 4 Proz. (ungefähr 120 cm³ Normalsäure pro 100 cm³ entsprechend) zur Spaltung bringen. Diese verlief sehr langsam; danach stand die Zersetzung still und *U. pasteurii* entwickelte sich nicht weiter.

Wird die Fleischbouillon mit 1—3 Proz. Glukose versetzt, so findet anfangs eine noch kräftigere Ureumzersetzung statt, wie ohne, doch später vermindert sich diese Schnelligkeit.

Miquel verwendete für diese Versuche auch, wie er sagt, „künstlichen Urin“, das heißt: 100 Wasser, 2 Pepton Chapoteau, 0,005 Holzäsche, 2—3 Proz. Ureum. Ich erhielt bei der Wiederholung des Versuches mit dieser Lösung nur dann gute Resultate, wenn ich ebenfalls Pepton Chapoteau verwendete, mit Pepton siccum Witte und anderen Handelspeptonen fand überhaupt kein Wachstum statt.

Andere Stickstoffquellen, wie die im Urin, in Fleischbouillon oder in Pepton Chapoteau vorkommenden, konnten für *U. pasteurii* bisher nicht aufgefunden werden, so daß die Art in dieser Beziehung sehr wählerisch ist. Selbst Asparagin und Glukose, welche für die meisten anderen Ureumbakterien eine ausgezeichnete Nahrung sind, veranlassen mit *U. pasteurii* kein Wachstum und keine Ureumspaltung; ebensowenig die in § 2 angeführten Rezepte für die Anhäufungen mit Ureum im allgemeinen. Offenbar gehört *U. pasteurii* zu den in Bezug auf die Ernährung am weitesten spezialisierten Bakterien, welche es überhaupt giebt.

In faulendem Urin scheint diese Art nur dann vorzukommen, wenn darin durch irgend welche Ursachen ein besonders hoher Gehalt an organischen Stoffen vorkommt, nicht, wenn derselbe, mit Leitungswasser verdünnt, zum Wachstum der gewöhnlichen Ureummikrokokken Veranlassung giebt. Ueberdies muß die Temperatur, wie gesagt, relativ hoch sein, um das Wachstum von *Pasteurii* zu ermöglichen.

6. Untersuchung der „Vorflora“. *Urobacillus miquelii* n. sp.

Es wurde schon bemerkt, daß unser Anhäufungsversuch nicht nur schließlich, als „Hauptflora“, eine Reinkultur von *U. pasteurii* ergibt, sondern daß die Vorstufen dieser Kultur, die „Vorflora“, mehrere andere Ureumbakterienarten enthalten, so daß der Versuch das Mittel ist, um eine ziemlich umfangreiche „Ureumflora“ kennen zu lernen. Bisher hatte ich noch keine Veranlassung, diese Ureumflora allseitig zu durchforschen und werde

mich, wie schon früher gesagt, beschränken, drei der am meisten charakteristischen Formengruppen derselben näher zu betrachten, weil ich glaube, daß Jeder, der meinen Versuch wiederholt, diese Formen erkennen wird, so daß sie ein allgemeines Interesse beanspruchen. Dieselben sollen, wie in § 4 gesagt, hier als *Urobacillus miquelii*, *Urobacillus leubei* und *Planosarcina ureae* vorgeführt werden. Mit den mir vorliegenden Beschreibungen konnte ich keine derselben sicher identifizieren.

Während *U. pasteurii* nur bei Gegenwart von Ammonkarbonat auf festen Nährböden wächst, lassen die Bakterien der Vorflora sich nicht nur darauf, sondern auch sehr leicht auf gewöhnlicher Fleischgelatine ohne weitere Zusätze kultivieren, wobei natürlich auch die Uream nicht spaltenden Formen zur Entwicklung kommen.

Die Untersuchung wird nun derweise ausgeführt, daß während unseres Anhäufungsversuches an gewissen, durch den Titer an Ammonkarbonat bestimmten Augenblicken, Impfstrieche auf Fleischgelatine gezogen werden, und von den dabei erhaltenen Kolonien, vermittelt der „Iriserscheinung“ auf Hefeureumgelatine, bestimmt wird, welche Kolonien wohl und welche nicht spaltend wirken.

Zwei Thatsachen kommen dabei sofort zur Beobachtung: Erstens, daß das Uream in 10-proz. Lösung, noch ehe dessen Spaltung beginnt, das Wachstum und die Vermehrung der meisten gewöhnlichen nicht spaltenden Arten in hohem Maße zurückhält oder aufhebt, und zweitens, daß mit dem Steigen des Gehaltes an Ammonkarbonat eine förmliche Verdrängung dieser letzteren, für soweit ihr Wachstum durch Uream nicht schon beeinträchtigt wird, durch Urobakterien stattfindet.

Die sozusagen giftige Wirkung, welche das Uream unter diesen Bedingungen auf die gewöhnlichen Bakterien ausübt, ist eine auffallende. Wird unsere Lösung z. B. mit einer so beträchtlichen Menge Gartenerde infiziert, daß die Anzahl der Mikroben, welche sich bei sofortiger Aussaat auf Fleischgelatine entwickeln, eine große ist, und wiederholt man die Aussaat später, jedoch noch ehe die Ureamspaltung beginnt, so findet man, daß solche allgemeine Formen, wie *B. fluorescens liquefaciens* und *B. fluorescens non liquefaciens* sehr frühzeitig und sehr vollkommen verschwunden sind. Etwas später verschwinden ebenfalls die im Boden so allgemeinen *Streptothrix chromogena*¹⁾, die Heupilze, *Bacillus mycoides* und *B. megatherium*.

Diese Thatsachen sind durchaus im Streit mit den Angaben von Herrn Miquel, welcher an vielen Stellen seines Buches die

1) Meinen früheren Angaben über diese Art kann ich noch hinzufügen, daß sie im Boden, besonders in einer Schicht von 2—4 cm Tiefe, angehäuft ist, darüber und unten scheint sie viel weniger vorzukommen. Diese Art spaltet Uream nicht, doch fand ich bei manchen Anhäufungen mit Uream eine andere, kein Pigment erzeugende *Streptothrix*, welche Uream zerlegt, jedoch nicht besonders kräftig. Dieses ist das erste Beispiel von Ureamspaltung durch einen nicht zu den Bakterien gehörigen Organismus.

großen Schwierigkeiten hervorhebt bei der Trennung der Urobakterien von den gewöhnlichen Formen. Diese Schwierigkeiten verfallen bei unseren Versuche, wie man sieht, gänzlich, und es ist eben eine rationelle Trennung, welche durch diese Anhäufungsmethode eingeleitet und vollendet wird.

Es ist aber eigentümlich, daß Reinkulturen von den Ureumbakterien, selbst von *U. pasteurii*, in durch Kochen unvollkommen sterilisierter, und deshalb Sporen von anderen saprophytischen Bakterien enthaltender Fleischbouillon mit 10 Proz. Ureum, viel öfter und länger gewisse nicht spaltende Formen enthalten, wie die rohen Anhäufungen, worin jene saprophytischen Formen doch sicher ursprünglich auch vorkamen. Offenbar ist die gesamte Ureumflora, welche in den letzteren entsteht, imstande diese Infektionen zu verdrängen, während die Reinkulturen in dieser Beziehung weniger energisch sind. Darauf müssen auch gewiß die Schwierigkeiten zurückgeführt werden, welchen Miquel begegnete, denn er arbeitete, wie er selbst sagt, oft mit solchen „partiellen“, aus dem Luftstaube herkunftigen „Reinkulturen“.

Mit dem Verschwinden der verschiedenen saprophytischen Formen parallel, entwickelt sich die Ureumflora schon in derjenigen Phase, wo die Ureumzersetzung noch kaum durch Titrieren des Ammonkarbonats anzuzeigen ist. Im Falle für die Infektion nicht pasteurisierte Gartenerde gebraucht wird, ist das Bild, welches die Gelatineplatten zu dieser Zeit zeigen, ebensowohl im Vorstadium, wie wenn die Ureumzersetzung eben erst begonnen ist, sehr charakteristisch, weil es beinahe oder vollständig aus einer Reinkultur besteht, von einer, wie ich glaube, noch nicht beschriebenen, Ureum zersetzenden Bakterie, welche ich *Urobacillus miquelii* nennen will (Holzschn. Fig. 2, Taf. Fig. 3).

In Fleischwasser mit 6 Proz. Ureum wird durch diese Art in 8 Tagen ca. $1\frac{1}{2}$ Proz. (entsprechend ca. 50 cm^3 Normalsäure erfordert zur Neutralisation von 100 cm^3 der Kulturflüssigkeit) Ureum gespalten, so daß sie zu den schwachen Ureumzetzern gehört, doch ist sie bemerkenswert als außerordentlich charakteristisches Glied der Ureumflora, welches bei meinem Anhäufungsversuche in allen seinen Varietäten, — und diese sind zahlreich, — zur Beobachtung gelangt.

Die Kolonien von *U. miquelii* auf Fleischgelatine sind groß, flach ausgebreitet und am Rande mehr oder weniger tief eingeschnitten, bei einzelnen Formen selbst stark verzweigt, wodurch Ähnlichkeit mit *B. zopfii* und *B. asteroides* entsteht¹⁾. Das Verflüssigungsvermögen ist schwach, dennoch wird es bei allen Varietäten früher oder später beobachtet, und zwar desto intensiver, je weniger verzweigt die Kolonien auf der Nährgelatine wachsen. In diesen Kolonien beginnt die Verflüssigung in der Mitte und schreitet centrifugal fort; oft liegt ein breiter, nicht verflüssigender Saum der Kolonie rings um eine kleine centrale Einsenkung. Nur die sehr stark verzweigten, *Asteroides*-ähn-

1) *B. asteroides* und *B. zopfii* spalten Ureum aber nicht.

lichen Kolonien verflüssigen selbst in sehr alten Kulturen beinahe gar nicht. Die Farbe der Kolonien ist gewöhnlich gelblich-weiß, doch sind einzelne Formen deutlich rosa.

Sporenbildung findet nicht statt, so daß *U. miquelii* nur, wie gesagt, aus mit frischer Erde infizierten Kulturen zu erwarten ist und beim Pasteurisieren oberhalb 80° C sicher vernichtet wird¹⁾.

U. miquelii ist eine Stäbchenbakterie, welche Eigenbewegung besitzt. Die Cilien sind nicht besonders zahlreich und peritrich angeordnet. In phylogenetischer Beziehung ist *Miquelii* sicher zu der Gruppe zu bringen, wozu *B. zopfii* und *B. asteroides* gehören²⁾.

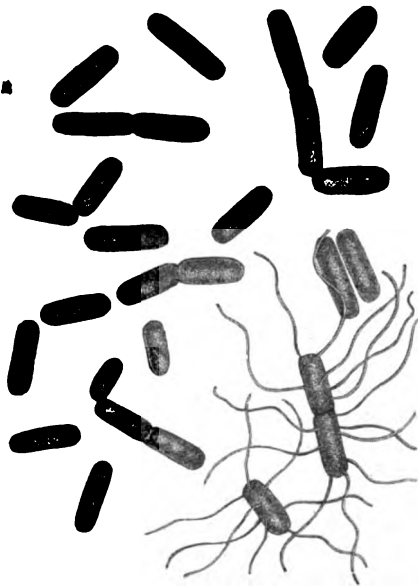


Fig. 2. *Urobacillus miquelii* n. sp. Oben links 2 Individuen mit der wahrscheinlichen Anordnung der Cilien. Vergr. 2580.

diese niemals als maßgebend gelten können, weil denselben kein bestimmter Versuch zu Grunde liegt, nach welchem jedermann imstande ist sich aus der Natur die bezüglichen Formen zu kultivieren.

1) Von den 8 *Urobacillen*, welche Miquel beschreibt, ist nur *U. schützenbergii* sporenfrei, doch stimmt die Beschreibung dieser Art in den übrigen Merkmalen durchaus nicht mit *U. miquelii*. Mir sind übrigens noch mehrere andere nicht sporenbildende *Urobacillen* bekannt geworden.

2) Der Habitat der beiden letzteren Formen ist ebenfalls Erde, doch haben sie Neigung sich anzuhäufen in Leimlösungen, welche der Verderbnis überlassen werden.

3) Keine Art läßt sich schneller wie diese in großer Menge aus der Natur in Kultur bringen, um Versuche mit Urease auszuführen.

Auf der Hefewasser-Ureumgelatineplatte abgestrichen, erzeugen die Kolonien von *U. miquelii*³⁾ schon nach wenigen Minuten Farbenringe, deren langsame Ausdehnung die schwache spaltende Wirkung dieser Art demonstriert. Lange aufbewahrte Gelatineulturen, welche gänzlich verflüssigt sind, wirken nicht mehr auf Ureum, obschon ihr Trypsin noch aktiv ist und zu energischer Gelatineverflüssigung veranlassen kann.

Ich habe in der Literatur keine Beschreibung finden können, welche gut auf diese Art paßt, es ist aber sehr wahrscheinlich, daß unter den zahllosen vorliegenden Bakteriendiagnosen mehrere auf bestimmte Formen davon Bezug haben; doch werden

7. *Urobacillus leubei* n. sp. als Bestandteil der Vorflora.

Die zweite ureumspaltende Art, welche durch ihre Allgemeinheit in der „Vorflora“ unserer Anhäufung besondere Aufmerksamkeit auf sich zieht, habe ich *Urobacillus leubei* genannt (Holzschn. Fig. 3, Tafel Fig. 4). Ich betrachte dieselbe trotz der vielen und interessanten Differenzen als verwandt mit *Urobacillus pasteurii*. Wächst *U. leubei* auf Ammonkarbonat-Fleischgelatine, so entstehen glasartig durchsichtige Kolonien, schwierig auf diesem Boden von *U. pasteurii* zu unterscheiden. Doch wächst *Leubei* beim Ueberimpfen auf gewöhnlicher Fleischgelatine weiter, *Pasteurii* nicht. *U. leubei* findet sich, eben wie *B. miquelii*, schon in der Kulturflüssigkeit unseren Versuches, wenn noch keine deutliche Ureumzersetzung bemerkbar ist, und bleibt darin dann und wann bis zum Ende, welcher letztere Umstand damit zusammenhängt, daß sie zu den Sporenbildnern gehört, und die Sporen hohe Alkaligehalte ertragen können. Die Art vermindert sich jedoch, sobald der Alkalititer 150 cm⁸ Normal- pro 100 cm³ Nährlösung übersteigt, weil von dieser Zahl an die vegetativen Zustände von *Leubei* vernichtet werden. Die Stäbchen selbst sind gewöhnlich 1,5 dick, bei 3 à 5 μ lang, bisweilen sind sie jedoch noch viel länger. *U. leubei* erzeugt auf Fleischwassergelatine ohne Ammonkarbonat und ohne Ureum, worauf sie gut fortkommt, zwei Kolonienarten: gelbliche, trübe, ziemlich dünne, graue Auflagerungen, welche Sporen führen, und mehr durchsichtig glasartige, sporenfreie Kolonien, welche übrigens der trüben Form ähnlich sind. Beide Kolonienformen sind auf diesem Nährboden klein und werden nicht größer wie 2—3 mm; sie bilden eine dünne Schicht, deren Rand vielleicht etwas dicker ist wie die Mitte. Auch in den Kulturen in Reagentienröhren bleibt die Auflagerung sehr

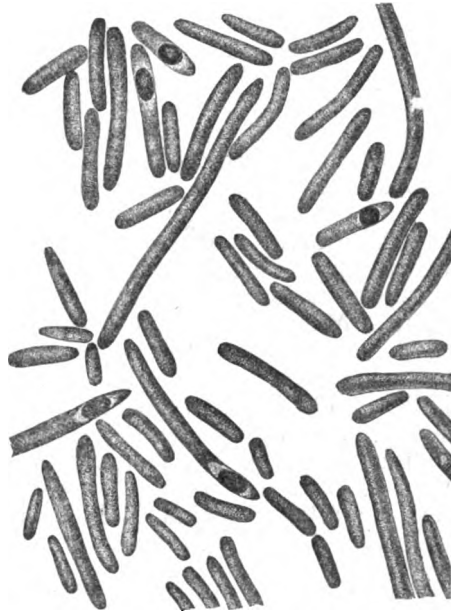


Fig. 3. *Urobacillus leubei* n. sp. Die Sporen sind länglich. Die Cilien konnten nicht genau gezeichnet werden. Vergr. 2580.

dünn und durchsichtig, breitet sich aber seitwärts vom Impfstrich aus, einen glasig-durchsichtigen Belag bildend, welcher jedoch sehr arm an Bakterien bleibt. Auf Ammonkarbonatboden werden die Kolonien viel größer. Verflüssigung findet nicht statt, selbst nicht in alten Gelatinekulturen mit absterbenden Bakterien. Die Sporen sind länglich, sie messen $0,8-1 \mu$. Viele Stäbchen, welche Sporen führen, sind etwas angeschwollen an der Stelle, wo die Spore sitzt, so daß clostridiumähnliche Formen vorkommen; doch ist die Clostridium-Bildung nicht besonders auffallend und viele Sporenstäbchen bleiben dünn. Es kommt Eigenbewegung vor durch peritriche Cilien, welche jedoch schwierig färbbar sind, und deren Länge nicht gut meßbar war, warum sie in der Zeichnung nicht aufgenommen sind.

Die Sporen sind sehr resistent und können kurze Zeit Kochhitze ertragen. In einer Kulturflüssigkeit, mit Chloroform geschüttelt, sterben die Stäbchen innerhalb einer Stunde, doch wurden die Sporen darin selbst nicht nach 24 Stunden getötet. Da die Sporen scharf getrocknet werden können, finden sie sich ebenso in getrockneter, wie in frischer Erde.

In Fleischwasser mit 6 Proz. Uream werden in 4 oder 5 Tagen etwa 2,5 Uream umgewandelt, welches einem Alkalititer von ca. 80 cm^8 pro 100 cm^8 Flüssigkeit entspricht. Diese Zahl ist das Mittel aus mehreren Versuchen, welche $64-90 \text{ cm}^8$ Alkali ergeben hatten. Warum die Ureamspaltung so bald still steht, während ein Uebermaß dieses Körpers noch vorliegt und lebende Bakterien massenhaft zugegen sind, bleibt in diesem, wie in vielen anderen ähnlichen Fällen unerklärt, und ist besonders deshalb auffallend, weil hier, eben wie bei *U. miquelii* und *U. pasteurii*, die Spaltung durch in den Bakterien vorkommende Urease stattfindet. Dieses Enzym muß also eine sehr beschränkte Wirkung ausüben, und nur relativ wenige Male sein eigenes Gewicht an Uream zu spalten vermögen.

8. Das Vorkommen von *Planosarcina ureae* n. sp. und das Fehlen von *Urococcus ureae* Cohn in der Vorflora. Anhäufung dieses *Urococcus*.

Planosarcina ureae (Holzschn. Fig. 4, Taf. Fig. 5 und 6) kommt bei unserer Anhäufung nicht mit jener Regelmäßigkeit, auch nicht so zahlreich vor, wie beide vorhergehende Arten, dennoch gehört sie zu den sehr allgemeinen Urobakterien, und da die morphologischen Charaktere sehr interessant sind, will ich kurz dabei verweilen. Es ist eine leicht auf Fleischgelatine kultivierbare Art, welche darauf flache, teigartig feste, gelbliche, eine beträchtliche Größe erreichende, nicht verflüssigende Kolonien erzeugt und dadurch sofort in den Impfstreichen der Rohanhäufungen sichtbar wird. Sowohl die Kolonien, wie die flüssigen Kulturen bestehen aus Paketen von 4-8 und mehr Zellen, welche sehr stark beweglich sind, durch peritriche Cilien, welche bei Färbeversuchen leicht abfallen. Die Einzelzellen messen $0,7-1,2 \mu$ und erzeugen kugelige Sporen von $0,6 \mu$ Durchmesser,

welche sehr gut das Pasteurisieren ertragen, so daß diese Sarcina bei unserem Anhäufungsversuche sowohl erhalten wird aus trischer, wie aus pasteurisierter Gartenerde. So konnte ohne Nachteil 10' auf 80° C erhitzt werden, ohne daß die Sporen starben¹⁾. Die Cilien sind 7—8mal länger wie die Einzelpaketen. In der früher von mir beschriebenen Glaskammer²⁾ sammeln die Einzelbakterien und Paketen sich, infolge ihrer Beweglichkeit, bei Atmungsversuchen im Meniscus unter dem Deckglase an.

Sie enthält ziemlich viel Urease und wirkt auf der Hefeureumplatte, eben wie *U. pasteurii*, beinahe momentan.

Ihr Spaltungsvermögen bezüglich Ureum ist jedoch nicht hoch, in 5 Tagen konnte nur einen Titer von 90 cm³ pro 100 cm³ Flüssigkeit erreicht werden, welches etwa 3 Proz. umgewandeltem Ureum entspricht³⁾. Die gewöhnlichen Urokokken, welche wahrscheinlich mit *Planosarcina* verwandt sind, zersetzten dagegen in derselben Zeit 5 Proz.

Bei dem Anhäufungsversuche wurde diese Art selbst noch gefunden, als der Titer 250 cm³ geworden war; bei noch höherem Gehalt an Ammonkarbonat verschwand sie.

Nicht nur bei der Anhäufung im Fleischwasser mit 10 Proz. Ureum wurde sie erhalten, sondern auch einige Male in dem in § 2 beschriebenen Recepte: 100 Leitungswasser, 0,025 KH²PO⁴, 0,25 Asparagin, 5 Ureum. Ihr Stickstoffbedürfnis ist also verschieden von demjenigen von *U. pasteurii*, welcher in letzterer Kulturflüssigkeit nicht leben kann.

Neben den genannten Formen finden sich bei unserem Versuche in der „Vorflora“ mit mehr oder weniger Konstanz noch einige

1) Auch die echten, nicht beweglichen Sarcinen erzeugen in einigen Fällen sehr resistente, runde Sporen, welche das Pasteurisieren gut ertragen. Dadurch ist es möglich, aus dem Boden eine sehr allgemein verbreitete, Ureum schwach spaltende, in vielen Beziehungen interessante Art zu erhalten, welche nur auf Pferdeuringelatine kultivierbar ist. Um diese Art, welche auf Fleischgelatine durchaus nicht wächst, zu bekommen, wird Gartenerde in Wasser bei 80° C kurz erhitzt und über die Uringelatine ausgegossen. Bei 23° C kultiviert, entsteht eine höchst eigentümliche Kolonienkultur, welche einige sehr abweichende, noch nicht beschriebene Arten, darunter unsere neue Sarcine enthält. Die schneeweißen, spröden Kolonien derselben liegen als ziemlich feste, blumenkohllartig oder blätterig aussehende, krause Scheiben, mit zierlich eingeschnittenem Rande, ohne Verflüssigung auf der Platte, wovon sie sich in einem Stücke abheben lassen. Sie bestehen aus ziemlich großen Sarcinepaketen (deren Einzelglieder ca. 1,5—2 μ messen) und einem aus sehr kleinen (unmeßbaren) Mikrokokken gebildeten Detritus, weshalb ich diese Art *Urosarcina dimorpha* nenne. Schließlich zersetzen die Kolonien das Indoxylkaliumsulfonat und färben sich blau durch Indigo. Auch die übrigen bei diesem Versuche erhaltenen Arten sind zum Teil sehr merkwürdig, besonders in morphologischer Beziehung, weil manche davon unzweifelhafte Übergangsformen darstellen zwischen *Sarcina* und *Bacillus megatherium*. Im Gegensatz zu *Urosarcina dimorpha* lassen dieselben sich leicht auf gewöhnlicher Fleischbouillongelatine züchten. Auch sie überstehen alle Pasteurisiertemperatur und auch darunter kommen ureumspaltende Arten vor. Die nahe und unerwartete genealogische Beziehung zwischen *Sarcina* und *Bacillus* ist mir erst durch diese Versuche und Beobachtungen klar geworden.

2) Centralbl. f. Bakt. Bd. XIV. 1893. p. 827.

3) Wäre kein Ammonkarbonat verloren, so würden 3 Proz. umgewandeltes Ureum genau 100 titrieren.

andere Urobakterien, worunter gelbe und farblose Mikrokokken, welche ziemlich kräftig wuchern, sowie sehr eigentümliche Stäbchenbakterien, welche noch nicht genügend untersucht sind. Wie in der Note 1, § 6, schon hervorgehoben, wurde darin auch, obschon nur vereinzelt, eine ureumspaltende *Streptothrix* gefunden.

Merkwürdigerweise konnten, in der mannigfaltigen Flora meines Anhäufungsversuches, niemals die gewöhnlichen, sehr aktiven Mikrokokken des in Zersetzung begriffenen Urins gefunden werden, welche ich als *Urococcus ureae* bezeichne und für identisch

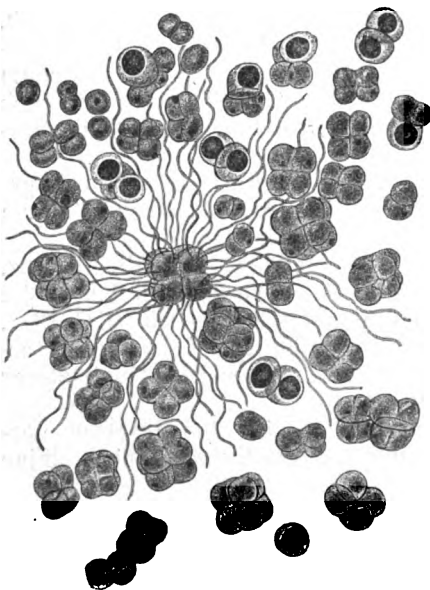


Fig. 4. *Planosarcina ureae* n. sp. In der Mitte ein Individuum mit der wahrscheinlichen Anordnung der Cilien; diese sind ungefähr 7mal länger wie der Bakterienkörper. Die sporenerzeugenden Sarcinen haben ihren übrigen Inhalt größtenteils eingebüßt. Sporen rund. Vergr. 2580.

halte mit den von Pasteur und von Tiegheem gesehenen, von Cohn und nach ihm von Leube, als *Micrococcus ureae* bezeichneten Formen. Miquel spaltet diese Art in mehrere andere Arten, doch wurden seine Beschreibungen für mich desto unverständlicher, je besser ich mit dem Material selbst bekannt geworden bin. Vorläufig halte ich mich darum an die alte Bezeichnung.

Es ist mir aber gelungen, auch diese Art durch einen speciellen Anhäufungsversuch annähernd in „Reinkultur“ zu erhalten, nämlich durch die Befolgung des Prinzips, daß viele Nichtsporenerzeuger, wozu die Urokokken jedenfalls gehören, „kryophil“ sind, d. h. sich bei niederen Temperaturen entwickeln können, wie die Bacillen, namentlich die Sporen erzeugenden Bacillen, welche meistens „kryophob“ und bisweilen selbst „thermophil“ sind. Dementsprechend sieht man in Fleischbouillon mit 5 Proz. Uream versetzt, mit dem urokokkenhaltigen Detritus eines Urinoirs infiziert¹⁾ und einige Tage bei 11–13° C kultiviert, schöne Mikrokokken und Streptokokkenkulturen eintreten. Auf nähere Besonderheiten des Verfahrens einzugehen, muß ich hier aber verzichten.

1) *Urococcus ureae* scheint im Boden und in Erde viel seltener zu sein wie die Urobacillen.

9. Zur Physiologie der Ureumspaltung durch Urease.
Die Urease ist am Bakterienkörper gebunden und
völlig unlöslich.

Daß die gewöhnlichen Urobakterien das Ureum vermittelt eines Enzyms, Urease, spalten, kann gegenwärtig als erwiesen betrachtet werden. Man kann sich leicht von der Richtigkeit dieser Aussage überzeugen und zwar durch folgenden Versuch. Auf ein Objektglas wird eine reichhaltige, auf Fleischgelatine gezüchtete Kultur von *Urococcus ureae* gebracht und in eine Glasdose gelegt neben einer Schale mit Chloroform. Im geschlossenen, mit Chloroformdampf sich sättigenden Raum, sterben die Mikrokokken bald ab, ohne daß dabei ihre Urease vernichtet wird. Bringt man das so getötete Material auf die Hefeureumplatte, so fängt diese nach einigen Augenblicken an zu irisieren, beinahe eben so stark, als wenn lebendes Material verwendet würde. Etwas beeinträchtigt ist die Wirkung allerdings, so daß jedenfalls ein wenig Urease durch das Chloroform inaktiv geworden ist.

Auch habe ich Kulturen von dem genannten *Micrococcus* in Fleischwasser, mit Alkohol präzipitiert und dadurch ein Enzympräparat bekommen, welches noch nach Jahresfrist Ureumlösungen spaltete, obschon die Bakterien darin sicher getötet waren und in den besten Kulturflüssigkeiten nicht wuchsen.

Mit sporenbildenden Bakterien, besonders mit *U. pasteurii*, stoßen diese Versuche auf Schwierigkeiten, weil die Sporen nicht durch Chloroformdampf getötet werden. Doch kann man sich leicht überzeugen, daß die vegetativen Zustände, wie sie z. B. nach 2 mal 24 Stunden erhalten werden durch Kultur der Sporen sowohl von *Pasteurii*, wie von *Leubei*, auf Ammonkarbonatfleischagar bei 30° C, und welche durch Chloroform wohl zum Absterben gebracht werden, auch bei diesen Arten das Ureum vermittelt eines Enzyms spalten.

Wenn es also einerseits feststeht, daß die Urease als Enzym sicher existiert, ist die Frage nach der Löslichkeit oder Unlöslichkeit derselben in Wasser bisher kontrovers geblieben. *Leube* sagt ganz bestimmt, daß bei der Filtration einer Urokokkenkultur durch eine Kerze keine Spur eines Enzyms filtriert ist¹⁾. Dagegen ist *Miquel* nicht weniger fest überzeugt, daß die Urease

1) Ueber die ammoniakalische Harnsäuregärung (*Virchow's Arch. f. patholog. Anat. u. Phys. u. f. klin. Med.* Bd. C. 1885. p. 540). *Leube* sagt wörtlich p. 569: „Daß es nicht gelingt, ein ungeformtes, harnstoffzerlegendes Ferment von den die Harnstoffspaltung bewirkenden Pilzen zu trennen“. Er sagt jedoch mehr, als er erwiesen hat, wenn er, wie folgt, fortfährt: „Und weiter glaube ich mich zu dem Schlusse berechtigt, daß die spezifische, freilich bis jetzt nicht näher definierte Lebensthätigkeit verschiedener in Reinkulturen gewinnbarer Pilze die Harnstoffzersetzung zustande bringt, nicht ein von denselben geliefertes ungeformtes Ferment, welches weiterhin, unabhängig von ihnen, Harnstoff in Kohlensäuresammonium zu verwandeln vermöchte“. Doch werden wir sehen, daß auch diese Worte von *Leube*, welche unrichtig sind für die von ihm selbst untersuchten Arten, dennoch, ohne daß er es wissen konnte, zutreffen für einige im Meere lebende Leuchtbakterien.

gelöst in den Kulturen vorkommt. Er meint, daß Leube's Versuch mit der Kerze nur darum gescheitert ist, weil er zu wenig Kulturflüssigkeit filtriert hat, wodurch alle Urease in den Filterporen zurückgeblieben ist, und er sagt, daß, wenn man nur mehr als 1 l Kulturflüssigkeit durch eine Chamberland-Bougie preßt, schließlich eine ureasehaltige Flüssigkeit durchläuft.

Nach meiner Meinung hat Leube Recht und müssen Miquel's Beobachtungen dadurch erklärt werden, daß dieser Forscher fehlerhafte Bougies, mit Spalten im Glasur der Verbindungsstelle, verwendet hat, welche allmählich die Bakterien selbst beim Filtrieren haben durchgehen lassen. Die folgenden Ueberlegungen und Versuche sind dafür entscheidend.

Urococcus ureae wächst sehr gut in Fleischbouillon, ohne Uream, und erzeugt dabei viel Urease. Nun scheint mir folgende Ueberlegung zutreffend zu sein. Wenn die Urease in Lösung vorkommt, sei es auch in kolloidaler Lösung, welche erst nach längerer Durchströmung durch ein Bougie passieren kann, weil in den Bougieporen zunächst zurückgehalten, so muß doch eine solche Lösung durch gewöhnliches Filtrierpapier, welches so grob strukturiert ist, daß ein Teil der Bakterien beim Filtrieren mit durchläuft, vom Anfange des Versuches an unverändert passieren. Wenn also in Urokokkenbouillon die Urease in wirklicher Lösung vorkommt, so muß die durch Filtrierpapier passierte Bouillon gleich stark auf eine Ureumlösung wirken, wie die nicht filtrierte bakterienhaltige Flüssigkeit selbst, wenn damit experimentiert wird bei einer für die Bakterien selbst tödlichen, für das Enzym günstigen Temperatur, z. B. bei 50° C.

Ist dagegen das Enzym am Bakterienkörper gebunden und unlöslich, so kann eine filtrierte Lösung nur wirken im Verhältnis zu den darin noch vorhandenen, durch die Filterporen passierten Bakterien und jedenfalls viel schwächer, wie die nicht filtrierte. Eine besonders starke Wirkung muß im letzteren Falle das auf dem Filter zurückgebliebene Bakterienmaterial besitzen, obschon nur in verschwindend geringer Quantität gegenwärtig. Der Versuch erweist, daß von diesen zwei Voraussetzungen die letztere richtig, die Urease also völlig unlöslich ist.

So wurde einer 6-proz. Ureumlösung ein gleiches Volumen, erstens einer frischen, nicht filtrierten und zweitens von dem Filtrat derselben Urokokkenkultur in Bouillon zugesetzt. Ferner wurde das Filter selbst mit dem darauf zurückgebliebenen Bakterienmaterial, in einem dem vorigen gleichen Volumen der Ureumlösung gebracht, und bestimmt, wie viel Kubikcentimeter Normalsäure jemals notwendig waren zur Neutralisation von 100 cm³ der Flüssigkeit, alles bei 50° C:

	Nach 5 Stunden	Nach 22 Stunden
1. Frische Urokokkenkultur, nicht filtriert	50 cm ³	72 cm ³
2. Filtrat derselben Kultur	20 "	26 "
3. Das Filter mit den Bakterien	52 "	96 "

Wie man aus dem Vergleich von 1 und 3 sieht, ist eine sehr beträchtliche Anhäufung des Enzyms auf dem Filter bemerkbar, trotzdem aus 2 hervorgeht, daß ziemlich viel Bakterien durch die Filterporen passiert sind, so daß das Filter sicher keine kolloidale Lösung zurückhalten würde. Hieraus muß geschlossen werden, daß das Enzym nicht gelöst, sondern am Bakterienkörper gebunden ist; denn wenn es gelöst vorkäme, selbst in sehr „grob molekularem“ Zustande, wäre nicht einzusehen, warum es sich auf dem Filter, dessen Poren selbst einen Teil der Bakterien durchlassen, ansammeln würde.

Nun ist weiter von Sheridan Lea¹⁾, wenn auch mit unklaren Worten und ohne genügenden Beweis, der Gedanke ausgesprochen, die Urokokken sollen erst beim Absterben das Enzym herausdiffundieren lassen und es nur während des Lebens zurückhalten. Der von mir beschriebene Versuch zeigt deutlich, daß auch diese Meinung nicht richtig ist, denn ich habe bei der für die Urokokken tödlichen Temperatur von 50° C experimentiert. Um dieses Resultat jedoch noch sicherer zu stellen, habe ich vergleichende Versuche ausgeführt mit filtrierten und nicht filtrierten, mit durch Aufbewahren während mehrerer Stunden mit Chloroform getöteten Kulturen. Die Versuchseinrichtung wurde übrigens wie vorgehend gewählt. Obschon das Chloroform nicht nur für die Bakterien, sondern auch für die Urease selbst sehr verderblich ist, wie besonders aus III hervorgeht, wobei das Filter samt den Bakterien mit reinem Chloroform in Kontakt gewesen war, während in I und II nur eine verdünnte Chloroformlösung hatte einwirken können, ist auch dieser Versuch durchaus nicht zweideutig:

	Nach 5 Stunden	Nach 24 Stunden
I. Mit Chloroform getötet, nicht filtrierte Kultur	14 cm ³	70 cm ³
II. Mit Chloroform getötet, filtriert	3 „	4 „
III. Filter mit den Bakterien, mit reinem Chloroform getötet	8 „	28 „

Aus diesen Zahlen geht, trotz der Rohheit der Versuchsanstellung, ohne weiteres und überzeugend hervor, daß ein Herausdiffundieren des Enzyms aus den getöteten Bakterien nicht stattfindet.

Die Urease ist also ein unlösliches Enzym, welches sowohl an dem lebenden, wie dem toten Bakterienkörper fest gebunden ist.

Dieses Resultat wird noch durch folgende Erfahrung erhärtet. Bringt man lebende oder tote Reinkulturen von Ureumbakterien in Strich- oder Klumpenform auf die Oberfläche von dünnen Agar- oder Gelatineplatten, und läßt sie darauf Wochen- oder Monate lang verweilen, damit ein lösliches Enzym vielleicht aus den Bakterien in die Platte hinein diffundieren könnte, und sticht man dann kleine

1) Some notes on the isolation of a soluble urea-ferment from the *Torula ureae*. (Journal of Physiology. Vol. XI. 1890. p. 226.)

Stücke aus der Platte, welche Stücke vermittelt der „Iriserscheinungen“ auf die Gegenwart von Urease geprüft werden, so ergibt sich, daß selbst in den geringst möglichen Entfernungen der Striche keine Spur des Enzyms vorkommt. Bedenkt man, daß Pflanzenschleim, lösliche Stärke und Gummi arabicum, unter diesen Bedingungen sich durch Diffusion bis auf meßbare Entfernungen fortbewegen, so könnte das letztere ebenfalls für die Urease erwartet werden, wenn es auch noch so wenig löslich wäre.

Nach diesen Befunden ist nicht daran zu zweifeln, daß die vielfach citierten „Ureaselösungen“ von Musculus¹⁾, nur durch darin suspendierte, nicht bemerkte Urokokken wirksam waren, was durch die Kleinheit dieser Mikroben und die schon weit zurückgelegene Zeit der Versuchsanstellung erklärlich ist und auch schon vermutungsweise durch Greene²⁾ ausgesprochen wurde.

Uebrigens ist die Existenz eines völlig unlöslichen Enzyms nichts unerwartetes mehr, seitdem ich bewiesen habe³⁾, daß die Isatase, d. h. das Enzym, welches aus dem Isatatan des Waids (*Isatis tinctoria*) Indoxyl erzeugt, aus den getöteten Zellen der Pflanze auf keine Weise extrahiert werden kann.

10. Ureumspaltung durch Katabolismus.

Einige Leuchtbakterien des Meeres spalten das Ureum, nicht vermittelst eines Enzyms, sondern durch den direkten Kontakt mit ihrem lebenden Protoplasma, welcher Vorgang mit demjenigen übereinstimmt, den ich in einem anderen Falle Katabolismus genannt habe. Ich habe nämlich gezeigt, daß genau dasselbe, was ich hier für die Spaltung des Ureums vortrage, auch gilt für die Spaltung des Indicans ($C^{14}H^{17}NO^6 + 3H^2O$), d. h. das Indigoglukosid von *Polygonum tinctorium* und *Indigofera leptostachya*, welches Glukosid ebenfalls entweder durch spezifische Indigoenzyme oder durch Katabolismus in Indoxyl und Glukose zerlegt werden kann, wie ich das anderswo ausführlich beschrieben habe⁴⁾. Die katabolische Spaltung konnte ich in diesem Falle mit vollständiger Sicherheit nachweisen, z. B. für mehrere Mikroben und speziell für die gewöhnlichen Gärungsbakterien, wie *Aërobacter aërogenes* und *Aërobacter coli* var. *infusionum*, während bei anderen Mikrobenarten Indigoenzyme vorkommen. Ich zweifele nicht daran, daß künftig noch sehr viele andere ähnliche Fälle entdeckt werden sollen, wo die gleiche Spaltung durch Enzymwirkung und Katabolismus zustande kommt.

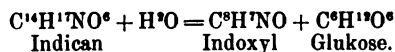
Nicht alle Leuchtbakterien katabolisieren das Ureum. Von den

1) Sur le ferment de l'urée. (Comptes rendus. T. LXXXII. 1876. p. 334).

2) The soluble Ferments and Fermentation. 1899. p. 287. Dieses ist das beste Buch, welches bisher über die Enzyme geschrieben wurde. Doch ist die Behandlung der eigentlichen Gärungen und Katabolismen darin schwach.

3) Further researches on the Formation of Indigo from the Woad (*Isatis tinctoria*). Proceedings Acad. of sc., Amsterdam, 30 June 1900. p. 101.

4) On Indigo-fermentation. Proceedings Acad. of sc., Amsterdam, 31 March 1900. p. 506. Sowohl die enzymatische, wie die katabolische Spaltung findet statt nach der Formel:



mir besser bekannten Arten findet sich diese Eigenschaft bei den verschiedenen Varietäten von *Photobacter luminosum* und *Ph. indicum* mit dessen Unterarten *Ph. splendidum* und *Ph. splendor maris* aus der Nordsee¹⁾. Dagegen wird Ureum nicht gespalten durch *Ph. phosphorescens* und *Ph. fischeri* und ihre zahlreichen Varietäten. Auch die gewöhnlichen Meeresvibrionen (welche auch bisweilen leuchtend sind, ihre Leuchtkraft in den Kulturen jedoch bald verlieren) spalten das Ureum nicht; ebensowenig die von den Herren Dunbar und Kutscher entdeckten Leuchtvibrionen und Leuchtspirillen aus Elbe, Spree und Saale. Von den weniger bekannten Leuchtbakterien bemerkte ich energische Ureumzersetzung bei einer im Meereswasser und im Magen von Austern²⁾ allgemeinen Art, welche sich auszeichnet durch sehr schwaches Wachstum und frühzeitige Degeneration in den Kulturen (*Photobacter degenerans* Fischer). Uebrigens kommen im Meereswasser auch dunkle Ureumspalter vor, wie ich durch Anhäufungsversuche feststellte³⁾, die jedoch noch nicht näher untersucht sind.

Die katabolische Spaltung durch die genannten aktiven Arten ergibt sich aus den folgenden Versuchen.

Wenn die zu untersuchenden Leuchtbakterien auf die früher beschriebene Hefe-Ureumgelatine gebracht werden, sei es lebend oder tot, so wird diese Gelatine verflüssigt, aber weiter geschieht nichts: das Ureum bleibt unverändert, wie lange der Versuch auch dauert. Hieraus ergibt sich, daß die gewöhnliche Urease den Leuchtbakterien fehlt. In diesem Falle sterben aber die Bakterien selbst, wegen Mangel an Kochsalz, nach sehr kurzer Zeit ab.

Wird dem Kulturboden 3 Proz. Kochsalz zugesetzt, so wird der Boden für das Wachstum (nicht für das Leuchten) geeignet. Werden auf diese Platte die lebenden Leuchtbakterien abgestrichen, so bleiben diese zunächst während mehrerer Stunden inaktiv in Bezug auf das Ureum, selbst wenn in sehr großen Mengen aufgetragen, so daß auch kein nur bei Gegenwart von Kochsalz wirkendes, ureumspaltendes Enzym im Bakterienkörper angehäuft ist. Nach Verlauf von einigen Stunden fängt dann aber eine energische Ureumzersetzung an; es entstehen ausgedehnte Newtonsche Farbenringe und später präcipitieren das Calciumphosphat und Calciumkarbonat auch als weißer Niederschlag in der Hefegelatine selbst, also ganz wie bei den Versuchen mit Urease. Die mikro-

1) *Ph. indicum* ist im Jahre 1886 von Herrn Prof. B. Fischer im Atlantischen Ocean bei Santa Cruz gefunden, und seitdem von mir 3mal in der Nordsee an der holländischen Küste, jedoch in besonderen Varietäten oder Unterarten, welche ich *Ph. splendidum* und *Ph. splendor maris* nenne; alle 3 spalten das Ureum energisch. *Ph. luminosum* ist in der Nordsee allgemein und von mir in Tausenden von Kolonien von Meerestieren und aus Meereswasser isoliert.

2) Bei einer Untersuchung vom Mageninhalt lebender, von New York nach Rotterdam gesandter amerikanischer Austern fand ich diese Bakterie zu Millionen in Reinkulturen. In dem Magen der holländischen Austern kommen sie seltener und neben anderen Leuchtbakterien vor.

3) Diese wurden zu dem Zwecke ausgeführt, die Leuchtbakterien des Meeres durch Ureum anzuhäufen, jedoch vergebens, weil dieselben von den dunklen Urobakterien verdrängt werden.

skopische Untersuchung des Bakterienmaterials lehrt, daß der Anfang der Ureumspaltung den Augenblick anzeigt, wenn die Bakterien ihre Teilung beginnen, daß also die Spaltung korrelativ zum Wachstum ist.

Tote Leuchtbakterien sind auf dieser Kochsalz - Ureumplatte vollständig wirkungslos. Urease fehlt denselben also durchaus.

Auch in geeigneten Nährlösungen, z. B. in Fischbouillon mit 3 Proz. Kochsalz und 2—3 Proz. Ureum, findet die Ureumspaltung durch Leuchtbakterien statt, natürlich auch ohne daß hierbei Urease vorkommt. Mit *Ph. indicum* entspricht der unter diesen Umständen gebildete Alkalititer in 2mal 24 Stunden, ca. 80 cm³ Normal-säure in 100 cm³ Flüssigkeit. Von 7 Proz. Ureum wird ca. 2 Proz. gespalten. Bei noch höheren Gaben von Ureum findet keine weitere Spaltung statt. Leuchten wird dabei nicht beobachtet, doch geht die Fakultät dazu nicht verloren. Die Masse der neugewachsenen Bakterien ist immer geringer, wie die in derselben Flüssigkeit ohne Ureum.

Eine Hauptverschiedenheit zwischen der hier betrachteten katabolischen Spaltung des Ureums und der Spaltung durch Urease liegt, genau wie bei der Indicanspaltung, in der Beeinflussung dieser Vorgänge durch die Temperatur. Der Katabolismus erreicht hier nämlich ein Optimum bei dem Temperaturoptimum des Wachstums, oder etwas höher, also für die indische Leuchtbakterie bei ca. 27° C in Fischbouillon, während die Spaltung durch Urease, im Falle diese aus *Urococcus ureae* stammt, bei 45—50° C gelegen ist, trotzdem die Optimumtemperatur des Wachstums für diese Mikrobe bei ca. 23° C liegt, und der Tod, wenigstens im feuchten Zustande, schon nach 2 Stunden bei 45° C, nach einigen Minuten bei 50° C erfolgt, wobei die Urease ungeschädigt oder nur sehr wenig geschädigt zurückbleibt.

Die einfachere Form des Katabolismus, nämlich die Spaltung unter Einfluß des ruhenden, nicht wachsenden Protoplasmas, wie bei anderen biochemischen Vorgängen, z. B. dem Atmungsprozesse und der Alkoholgärung, schon bekannt, wurde bei der Ureumzersetzung bisher noch nicht aufgefunden. Voraussichtlich wird die weitere Vertiefung der Kenntnis darin jedoch Veränderung bringen, denn die Spaltung des Ureums einerseits durch Urease, andererseits durch die oben beschriebene Form des Katabolismus, welche, wegen des Zusammenhanges mit dem Wachstum Auxo-Katabolismus, oder kurz Auxobolismus würde genannt werden können, sind die Extreme einer Reihe von Vorgängen, worin die durch ruhendes Protoplasma bewirkte katabolische Spaltung in der Mitte stehen würde.

Tafelerklärung

Die Vergrößerung ist überall 1000-fach. Die Cilienfärbung fand nach Zettnow statt. Die Figuren 1, 4 und 5 sind Photographieen lebender Präparate.

Fig. 1. *Urobacillus pasteurii* Miquel. Lebende Kultur auf Ammonkarbonat-Fleischgelatine, 14 Tage alt.

Fig. 2. *Urobacillus pasteurii* mit peritrichen Cilien. Kultur auf Ammonkarbonat-Fleischagar, sehr jung.

Fig. 1



Fig. 2

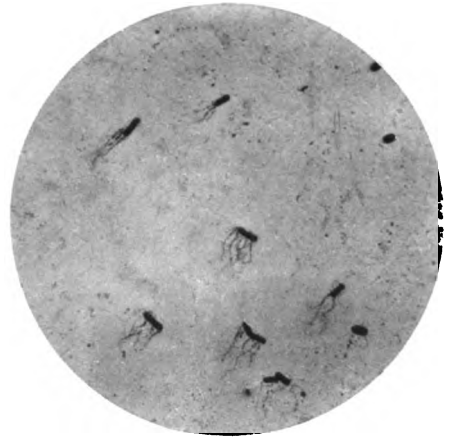


Fig. 3

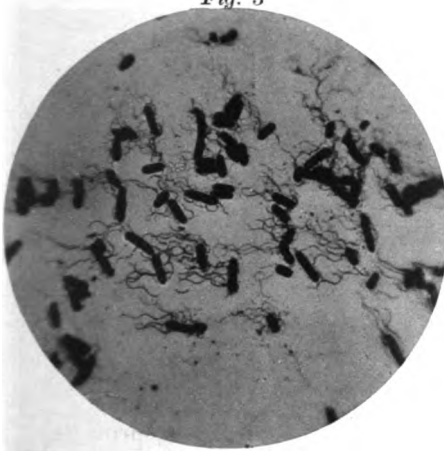


Fig. 4

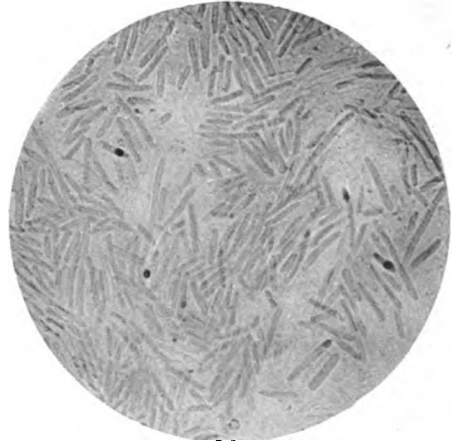


Fig. 5

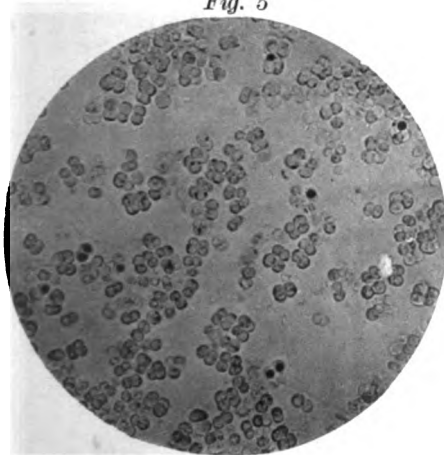


Fig. 6

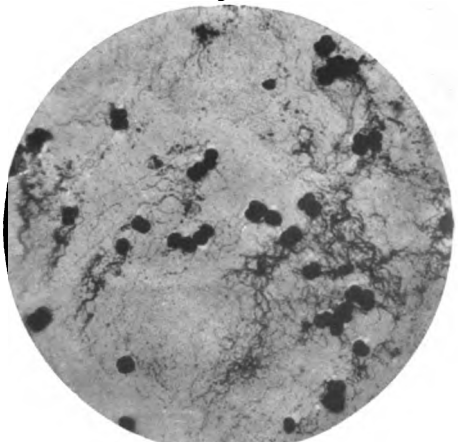


Fig. 1 u. 2 *Urobacillus pasteurii*. Fig. 3 *M. miquelii*. Fig. 4 *M. leubei*. Fig. 5 u. 6 *Planosarcina u*
Vergrößerung 1000-fach.

Fig. 3. *Urobacillus miquelii* mit peritrichen Cilien. Fleischagarkultur, jung. Erzeugt keine Sporen.

Fig. 4. *Urobacillus leubei*. Lebende Kultur auf Fleischgelatine. Cilienfärbung nicht gelungen; Cilien wahrscheinlich peritrich. Sporen länglich.

Fig. 5. *Planosarcina ureae*. Lebende Kultur auf Fleischgelatine. Die Sporen sind kugelig.

Fig. 6. *Planosarcina ureae*, mit peritrichen, dicht über dem Sarcinakörper angeordneten Cilien.

Nachdruck verboten.

Bacillus carotovorus n. sp., die Ursache einer weichen Fäulnis der Möhre.

Von **L. R. Jones**,

Professor der Botanik an der Universität von Vermont.

(Schluß.)

Der Erfolg bei diesen Versuchen war folgender:

Möhren. 24 Stunden bei 22° C die Flüssigkeit gut getrübt. Zartes weißes Wachstum auf den feuchteren Teilen der Möhre in der Luft. Nach 2 Tagen die Flüssigkeit stark getrübt. Kein Häutchen. Dünnes, weißes, glattes, feuchtes Wachstum auf dem größten Teile der Oberfläche der Möhre; deutliche, mäßige Gasentwicklung. Letztere dauerte langsam 3 oder 4 Tage lang fort. Das Oberflächenwachstum blieb dünn, reichte selten hin, um die Oberfläche des Substrats zu bedecken. Geringes oder kein Häutchen. Ein weißer Niederschlag begann am 2. oder 3. Tage sich anzusammeln, und war in den einen Monat alten Kulturen ziemlich reichlich. Das Zellgewebe des Cylinders war erweicht, so daß es binnen einer Woche oder weniger bei kräftigem Schütteln der Röhre zerfiel. Verfärbung der Möhre fand nicht statt.

Die sterile Flüssigkeit rötete Lackmuspapier; in 5 Tage alten Kulturen war sie noch sauer, aber das Pflanzengewebe war alkalisch. Nach einer Woche wurde auch die Flüssigkeit alkalisch und blieb so.

Kartoffel. Kulturen auf Kartoffel ähnelten denen auf Möhre, außer in folgenden Punkten: Das Wachstum war üppiger, bildete eine dickere, rahmweiße Schicht auf den feuchteren Teilen der Kartoffel und etwas mehr Niederschlag. Oft bildete sich ein zerbrechliches, unvollkommenes Häutchen. Nach der ersten Woche wurde die Kartoffel leicht grau. Die Gewebe der Kartoffel wurden etwas erweicht, aber bei weitem nicht so sehr wie die von Möhren und weißen Rüben.

Andere Vegetabilien. Aehnliche Kulturen in Röhren mit Cylindern von Rüben, Rettigen, Spargel, Zwiebeln und süßen Bataten gaben wesentlich dieselben Resultate wie die mit Möhren. In Runkelrübenröhren wurde die rote Farbe des Pflanzengewebes nach einigen Tagen teilweise gebleicht, und die Gewebe wurden weniger erweicht als bei anderen Vegetabilien, mit Ausnahme der Kartoffel. An Cylindern von Kokosnuß zeigte sich schwaches Wachstum und keine Erweichung der Gewebe.

B. Biochemische Eigenschaften.

1) Temperaturverhältnisse.

a) Hohe Temperaturen. Optimum der Temperatur war 27—30° C. Das Maximum (in Rindfleischbrühe mit der Reaktion + 1,5 Proz.) 39—40° C. An gekochten Cylindern von Kartoffel und Rübe hörte bei 36° C das Wachstum auf, dauerte aber in Brühe bei 38° sehr langsam weiter fort. Bei 24° war das Wachstum besser als bei 34° C. 10 Minuten dauerndes Eintauchen von frisch inokulierten Röhren mit Rindfleischbrühe in ein Wasserbad von 51° sterilisierte sie, und ähnliche Einwirkung von Temperaturen bis zu 47° C verzögerte die Entwicklung. In Uschinsky's Lösung erfolgte die Tötung durch Wärme um einen ganzen Grad höher als in Fleischbrühe, nämlich 52° C.

b) Niedrige Temperaturen. Kulturen in Fleischbrühe, Agar, Gelatine und verschiedenen anderen Kulturmitteln hielten sich 20 Tage bei 1° C, wuchsen nicht merklich, nahmen aber das Wachstum wieder auf, als die Temperatur erhöht wurde. Bei 2° C fand in Gelatineröhren schwaches Wachstum statt, aber keines in anderen Stoffen (Brühe, Agar, gekochte Kartoffel und Rübe). Bei 3° C zeigte sich besseres Wachstum auf Gelatine mit leichter Verflüssigung, geringes auf Agar, kein merkliches während 5 Tagen in Fleischbrühe oder gekochten Vegetabilien. Bei 4° C fand sich geringes Wachstum auf Gelatine, Agar und in Fleischbrühe, aber keines auf gekochten Vegetabilien (Kartoffel, Möhre, Rübe). Bei 12° C zeigte sich Wachstum auf diesen Vegetabilien, das am 5. Tage auf ein Drittel von dem geschätzt wurde, das bei 20 bis 24° C stattfand.

2) Beziehung zu freiem Sauerstoff. Der Bacillus ist fakultativ anaerobisch, wie durch sein Wachstum in der Tiefe von StICKkulturen, in dem verschlossenen Teil von Gärungsröhren u. s. w. bewiesen wurde, aber in allen diesen Fällen war sein Wachstum in der Gegenwart von freiem Sauerstoff viel üppiger.

3) Im teilweisen Vacuum. Vor kurzem gedämpfte und frisch inokulierte Fleischbrüheröhren wurden in einen Raum gebracht, aus dem die Luft ausgepumpt wurde, so daß die Quecksilbersäule nur auf 9 cm stand. Es fand langsames Wachstum statt, das am 11. Tage auf die Hälfte von dem geschätzt wurde, das sich in der normalen Atmosphäre zeigt.

4) In Kammern, aus denen der Sauerstoff nach Buchner's Methode entfernt worden war (die Kulturböden waren frisch sterilisiert), zeigte sich schwaches Wachstum in Brühe und auf Agar, das nach 5 Tagen auf weniger als 1 Proz. von dem in normaler Luft geschätzt wurde.

5) In reinem Wasserstoff (die Kulturböden waren frisch sterilisiert) fand nach 13 Tagen auf gekochter Möhre und Kartoffel kein Wachstum statt, geringes in Röhren mit Rindfleischbrühe, Agar, 5-proz. Glycerinagar, 5-proz. Rohrzuckeragar, Milch. Die Milch war bei Oeffnung der Kammer geronnen.

6) In reiner Kohlensäure zeigte sich schwaches Wachs-

tum in Röhren mit den folgenden Substanzen: Fleischbrühe, Dunham's Peptonlösung, Milch, Agar, 5 Proz. Rohrzucker-Agar, 5 Proz. Glycerin-Agar, 5 Proz. Mannit-Agar. Der Organismus wächst nicht auf folgenden: 5 Proz. Traubenzucker-Agar, Ushinsky's Lösung, Gelatine, Nährböden mit essigsauerm Natron (siehe oben), sterilisierter Möhre und Kartoffel. Diese Angaben stützen sich auf drei Versuche, von denen jeder 10—17 Tage dauerte. Alle Röhren ohne Wachstum wurden nach Entfernung aus der Gaskammer als steril befunden. Das Wachstum in Milch nach 17-tägigem Aufenthalt in Kohlensäure genügte, um sie zu koagulieren. In einer anderen Reihe, die 13 Tage darin geblieben war, zeigte sich keine sichtbare Gerinnung der Milch, als sie aus der Kammer kam, aber sie gerann sogleich, als die Röhren in siedendes Wasser getaucht wurden, was bedeutendes Wachstum beweist. Die Abwesenheit freien Sauerstoffs in der Kulturkammer wurde in jedem Falle durch die Unfähigkeit bewiesen, bei der Oeffnung die Verbrennung zu unterhalten, und noch sicherer in in einer Reihe durch Einschließung von Kulturröhren mit Methylblau-Peptonlösung. Letztere verloren ihre Farbe in wenig Tagen und blieben farblos bis zur Eröffnung der Kammer, worauf sich die ursprüngliche blaue Farbe sogleich wieder bildete.

7) Verhältnis des Wachstums zu Säuren und Alkalien. Kulturen in Fleischbrühe, die gegen Phenolphthalein neutral war, wurden mit solchen verglichen, die durch Aetznatron auf $-2,0$ Proz. und -4 Proz. alkalisch gemacht worden waren, sowie mit anderen, denen Apfelsäure hinzugefügt worden war, so daß die Reaktion $+3,0$ Proz. $+6,0$ Proz. $+9,0$ Proz., und $+12,0$ Proz. betrug. Neutrale Fleischbrühe gab das beste Resultat. Das Verhältnis des Wachstums, wie es sich in der vergleichenden Trübung der anderen Röhren am zweiten Tage zeigte, wurde im Vergleich mit neutraler Brühe abgeschätzt, wie folgt: Brühe $-2,0 = 80$ Proz.; Brühe $-4,0 = 50$ Proz.; Brühe $+3 = 10$ Proz. Kein Wachstum fand statt in den Brühen $+6,0$, $+9,0$, $+12,0$. Agarröhren wurden zubereitet mit den Reaktionen von $-8,0$ Proz., $+6,0$ Proz., $+9,0$ Proz. und $+12,0$ Proz. Schräge Röhren von diesen wurden stark geimpft und 4 Tage lang bei $25-30^{\circ} C$. gehalten. In der alkalischen Röhre zeigte sich zweifelhaftes Wachstum, in den sauren nicht.

8) Erzeugung von Säuren und Alkalien. Eingehende Angaben über die Reaktionen der Kulturen finden sich bei Besprechung der verschiedenen Kulturböden. Sie berechtigen zu folgenden allgemeinen Schlüssen:

Säuren. Bei Gegenwart verschiedener Kohlehydrate findet sich in den meisten untersuchten Kulturböden aktive Säurebildung, gewöhnlich begleitet von schwacher Gasentwicklung. In Milchkulturen war diese Säure zum Teil flüchtig (CO_2 ?), zum Teil nicht flüchtig. Ihre Natur wurde in keinem Falle genau bestimmt, ausgenommen, daß in allen Gärungsröhren ungefähr 20 Proz. des gebildeten Gases aus Kohlensäure bestand. Zahlreiche Vergleichen von 2 Proz. Rohr-, Trauben-, Milchzucker und Glycerin-

fleischbrühe zeigten, daß die größte Säureproduktion bei Traubenzucker stattfand, fast ebensoviel bei Rohr- und Milchezucker, viel weniger bei Glyzerin. Die genauen Angaben finden sich später bei der Besprechung der Kulturen in Gärungsröhren. Wenn eine bedeutende Menge von Zucker vorhanden war, wurde die Säurebildung so stark, daß der Organismus zu Grunde ging. So fand sich in Dunham's Peptonlösung mit 1 Proz. Traubenzucker schnelles Wachstum, der Kulturboden wurde entschieden sauer, und binnen neun Tagen starben die Kulturen ab. In Unschinsky's Lösung mit 5 Proz. Rohrzucker starb die Kultur ab, nachdem sie nur halb soviel Niederschlag gebildet hatte, als sich in der unvermischten Lösung entwickelte. Das Wachstum mußte in diesem Falle mehrere Wochen lang fortgedauert haben, aber die genaue Zeit des Todes wurde nicht bestimmt. In Kulturen in Gärungsröhren mit 2 Proz. Zucker-Fleischbrühe blieben sehr wenige Organismen am 15. Tage in den Röhren mit Trauben-Rohr- und Milchezucker lebendig. Da wir vermuteten, daß diese Säuerung die Thätigkeit der Gasproduktion in den Gärungsröhren beeinflussen könnte, wurde eine Reihe von Kulturen in Röhren gemacht (enthaltend 2 Proz. Trauben-, Rohr- und Milchezucker und Mannit), wobei ungefähr 1 g kohlen-sauren Kalks in jede Röhre gegeben wurde. Das Resultat war jedoch teilweise Verhinderung des Wachstums in Gegenwart von Kalk und die Erzeugung von ungefähr nur 10 Proz. von dem Gas. Diese Kulturen wurden sauer, aber weniger, als die ohne Kalk.

Erzeugung von Alkali. Diese trat anscheinend beständig in Begleitung des Wachstums auf, war aber niemals bedeutend. So gaben einen Monat alte Fleischbrühekulturen, in denen der ursprüngliche Kulturboden eine Reaktion von + 1,5 gegen Phenolphthalein zeigte, eine Reaktion von - 1,0 Proz. In allen Kulturen, in denen nach der Erschöpfung der Kohlenhydrate oder anderer die Säurebildung begünstigender Stoffe fortdauernde Entwicklung stattfand, nahm die Alkalinität mit dem Alter langsam zu. Beispiele dafür sind schon bei den verschiedenen Kulturböden angeführt worden.

Peptonlösung mit Rosolsäure, deren ursprüngliche Färbung bloß lachsfarbig war, fing bei 20--25° C am zweiten Tage nach der Inokulation an zu erblassen, und die Färbung verschwand nach wenigen Tagen ganz. Die Kulturen blieben nahezu 3 Monate lang farblos, worauf die natürliche Farbe langsam zurückkehrte und nun fortbestand. Dies bewies ein Vorwalten der Säurebildung in den früheren Stadien des Wachstums, die zuletzt durch langsame Alkalibildung überwunden wurde.

In Pepton mit saurem Fuchsin erschien ein ähnlicher Beweis von langsamer Alkalibildung, denn während des zweiten Monats begann die Farbe langsam zu erblassen und fuhr so fort während der folgenden 2 Monate, solange die Kulturen beobachtet wurden.

9) Reduktionsprozesse. Milch mit Lackmus, 10 ccm in jeder Röhre, wurde bei 20-22° C binnen 2 Wochen vollkommen gebleicht, wobei die Reduktion am Boden anfang.

In der mit Methylenblau gefärbten Dunham'schen Peptonlösung fand keine Reduktion der Farbe statt, wenn die Kulturen in der normalen Atmosphäre wuchsen, wohl aber, wenn sie sich in Kohlensäure entwickelten. Bei Zugabe von 1 Proz. Traubenzucker war das Wachstum üppiger und in der normalen Atmosphäre wurde die Intensität der Färbung binnen 24 Stunden auf ungefähr $\frac{1}{3}$ der ursprünglichen reduziert. Dieser Zustand dauerte bis zum 3. Tage, wo die Farbe zurückkehrte, ohne Zweifel infolge der Hemmung des Wachstums durch die Entwicklung der Säure.

Kulturen in Fleischbrühe mit Nitrat zeigten bei Prüfung mit der Stärke-Jodmethode am 4. Tage nach der Impfung Reduktion des Nitrats zu Nitrit. (Das Kulturmittel bestand aus Wasser mit 1 Proz. Witte's Pepton, 0,25 Proz. Rindfleischextrakt, 0,3 Proz. Kalisalpeter; die Reaktion war + 1,0 Proz.; nach vorhergehender Untersuchung war es frei von Nitriten.

10) Indolproduktion. In 20 Tage alten Kulturen in Dunham's Peptonlösung fand sich Indol, und ebenso in Kulturen in zuckerfreier Fleischbrühe nach 20 Tagen. In keinen von beiden zeigten sich Nitrite. Die Indolreaktion war in beiden Fällen weniger ausgesprochen als die Kulturen des *B. coli communis* von demselben Alter.

11) Schwefelwasserstoff. Mit essigsauerm Blei befeuchtete Streifen wurden in die Mündung von Röhren gehängt, die junge Kulturen auf verschiedenen Nährböden enthielten. Diese blieben da eine Woche lang unter häufiger Befeuchtung. Leichte Schwärzung der Papiere zeigte sich bei Kulturen auf gedämpften Kartoffeln und Rüben sowie in Fleischbrühe. An Kulturen auf gedämpften Möhren und Kokosnuß oder Uschinsky's oder Dunham's Lösung zeigte sich nichts.

12) Geruch. Die meisten Kulturen hatten wenig Geruch. Die einzigen Fälle, in denen er stark genug war, um charakterisiert werden zu können, waren ein Käsequarkgeruch in Milchkulturen, sowie ein unangenehmer Geruch (an Merkaptan? erinnernd), der sich auf gekochten oder ungekochten Cruciferenwurzeln und an Zwiebeln entwickelte.

13) Verhalten gegen Licht. Der Bacillus ist sehr empfindlich gegen Sonnenlicht. Frisch gegossene Agarplatten, deren eine Hälfte durch undurchsichtige braune Karten dicht beschattet war, wurden zu Anfang des September um Mittagszeit dem Sonnenlichte ausgesetzt. Eine Aussetzung von 10 Minuten tötete alle Organismen; nach 5 Minuten waren 87 Proz. tot, nach 3 Minuten 70 Proz., nach einer Minute 33 Proz., während nach nur 10 Sekunden 7 Proz. gestorben war.

Außerdem zeigte sich merkliche Verzögerung der Entwicklung in den Kolonien, die dem Sonnenlichte nur 10 Sekunden lang ausgesetzt gewesen waren. Auch längere Aussetzung an diffuses Licht war tödlich. So zerstörte an Platten, deren eine Hälfte oben und unten und an den Seiten mit undurchsichtigen braunen Karten bedeckt war, 30 Minuten dauernde Aussetzung alle Organismen bis zu 8 mm

rückwärts von der Aussetzungslinie, und 2 Stunden lange Aussetzung führte zu vollständiger Sterilität auf solchen Platten, Durchmesser 8 cm. Die Organismen stammten in allen diesen Fällen von 24 Stunden alten Fleischbrühekulturen. Die Temperatur innerhalb der Platten betrug während der Aussetzung 35° C.

14) Austrocknung. Der Bacillus hat sich sehr empfindlich für Austrocknung erwiesen; selbst kurzdauerndes Vertrocknen in der Temperatur des Laboratoriums ist tödlich. So wurde in einer Reihe von Experimenten mit einer 1 mm großen Oese eine 24 Stunden alte Fleischbrühekultur auf eine Reihe von sterilen Deckgläschen übertragen. Diese Gläser wurden dann in sterile Fleischbrüheröhren geworfen, nachdem sie bei 28—31° C verschieden lange getrocknet worden waren. 20 Minuten langes oder kürzeres Liegenlassen, nachdem die letzte Spur sichtbarer Feuchtigkeit von dem Glase verschwunden war (30 Minuten nach der Uebertragung mit der Oese aus der Röhre), machte die meisten Deckgläser steril. In wenigen Fällen blieben lebende Organismen auf so während mehrerer Stunden getrockneten Gläschen zurück, aber dies rührte wahrscheinlich von der Bildung eines oberflächlichen Häutchens her, das einige der darunter begrabenen Organismen vor der Austrocknung geschützt hatte. Das Experiment wurde mit Verdünnung der Fleischbrühe durch steriles Wasser wiederholt. Wenn Tropfen dieser verdünnten Kultur bei 22° C der Austrocknung unterworfen wurden, fand man einige der Deckgläschen schon nach 2 Minuten langem Trocknen steril.

15) Produktion von Gas. Mäßige Gasbildung zeigte sich bei Gegenwart von gärunsfähigen Kohlehydraten. Dies wurde in Röhrenkulturen von Milch und verschiedenen gekochten Vegetabilien beobachtet. Es wurde sorgfältiger beobachtet in Kulturröhren mit geschütteltem Agar denen kein Kohlehydrat hinzugefügt worden war, im Vergleich mit anderen, die 5 Proz. Rohrzucker, Traubenzucker, Mannit oder Glycerin enthielten. In solchen Röhren von 1-tägigem Wachstum sah man zahlreiche Gasblasen in dem einfachen Agar, weniger in dem Glycerin- und Mannit-Agar, und sehr wenige und kleine oder gar keine in dem Trauben- und Rohrzucker-Agar. Zweifellos würde sich viel mehr Gas in Agar entwickelt haben, die geringere Mengen von diesen Kohlehydraten enthalten hätten, denn, wie schon gesagt, in 5 Proz. Zuckeragar ist das Wachstum langsam.

Zahlreiche Reihen von Kulturen wurden in Dr. Th. Smith's Gärungskolben gemacht, um die entwickelten Gase zu messen und zu analysieren.

Die Gärungsfleischbrühe wurde von Muskelzucker befreit, indem man in ihr zuerst den *B. coli communis* wachsen ließ, wie es von Th. Smith empfohlen wird¹⁾. Die ursprüngliche Reaktion war in allen Fällen + 1,5 Proz. Das Wachstum erfolgte bei der Temperatur des Laboratoriums, 20—25° C.

1) Smith, Th., Journal of experimental medicine. Vol. II. p. 546.

In allen Fällen erfolgte schnelle Trübung der Fleischbrühe in der Kugel, worauf später weniger starke Trübung in dem geschlossenen Zweige folgte. Das Wachstum in letzterem war sehr zart und kurz dauernd in den zuckerlosen und Glycerinröhren, dauerte aber in den anderen die meiste Zeit oder während der ganzen 15 Tage fort, die Glycerinkulturen wurden durch die ungewöhnlich starke Trübung der Flüssigkeit in der Kugel charakterisiert. In keinem Falle entstand ein Häutchen oder bildete sich Farbe. Die Niederschläge in der Verbindungsröhre waren in allen Fällen gering, ihre Menge wechselte ungefähr auf dieselbe Weise wie die Gasbildung. Von der Flüssigkeit in den Kugeln und von der in dem geschlossenen Zweige wurden getrennte Titrierungen an zwei Reihen von Röhren ausgeführt. Die Reaktionen waren an beiden Stellen ähnlich in allen Röhren, außer in den Fleischbrühen ohne Zucker. Bei diesen war die Reaktion in der Kugel wesentlich dieselbe wie die der ursprünglichen Brühe, + 1,6 Proz., während sie in dem geschlossenen Zweige viel stärker sauer war, + 2,6 Proz.

Die wichtigsten der anderen Resultate sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt:

Zusammensetzung der Brühe	Volumen des Gases in dem geschlossenen Zweige				Reaktion der Brühe in der Kugel am 15. Tag	Natur des Gases	
	2. Tag	3. Tag	5. Tag	15. Tag		CO ₂	Explosiv. Wasserstoff?
2 ^o . Traubenzucker	Kleine Blasen	3%	4%	5%	+ 6,4%	20%	80%
„ Rohrzucker	„	4 „	6 „	10 „	+ 6,0 „	„	„
„ Milchzucker	„	1 „	3 „	15 „	+ 5,8 „	„	„
„ Mannit	Kleine Blasen	4 „	6 „	8 „	Stark sauer gegen Lackmuspapier	„	„
„ Glycerin	0	0	0	0	+ 3,0%	„	„
„ Ohne Zucker	0	0	0	0	+ 1,6 „	„	„

V. Einschränkung der Krankheit.

Zum Schluß noch einige Worte über die Beschränkung dieser Krankheit. Die folgenden Heil- und Vorbeugungsmittel werden durch die vorhergehenden Untersuchungen gegeben.

1) Fruchtwechsel. Infizierter Boden muß für mehrere Jahre zu Samenernten (Getreide, Bohnen etc.) und Gras bestimmt werden, oder, wenn Wurzelfrüchte vorgezogen werden, für Runkelrüben oder vielleicht Kartoffeln.

2) Düngung. Als Vorbeugungsmittel darf Dünger von Vieh das mit zerfallenen Vegetabilien gefüttert wird, nicht auf das Land gebracht werden, auf dem Möhren wachsen sollen, noch auch darf Kompost gebraucht werden, der solche Abfälle aus dem Garten enthält, weil das Verhalten des Organismus seine Fähigkeit beweist, sich schnell als Saprophyt zu entwickeln.

3) Trocknung der Wurzeln. Die verderbliche Wirkung kurzen Austrocknens auf diesen Bacillus zeigt, wie wichtig es ist,

die Oberfläche der Wurzeln, besonders wenn sie Schnitt- oder Stoßwunden haben, vor der Aufbewahrung zu trocknen. Dies wird leichter zu erreichen sein, wenn die Wurzeln bei klarem, trockenem Wetter eingeerntet werden.

4) Einfluß des Sonnenlichts. Der fast augenblickliche Tod von Organismen in Agar, wenn sie dem direkten Sonnenlicht ausgesetzt werden, und ihr Absterben in diffusem Licht binnen 2 Stunden beweist, wie wichtig es ist, die Wurzeln auf dem Felde so lange als möglich im Sonnenschein liegen zu lassen.

5) Temperatur bei der Aufbewahrung. Die Wichtigkeit kalter Aufbewahrung ist allgemein anerkannt. Zerstörender Zerfall kann schwerlich von diesem Organismus verursacht werden, wenn die Temperatur beständig unter 10° C bleibt, und sein Wachstum wurde auf allen vegetabilischen Kulturböden unter 4° C vollkommen verhindert.

Referate.

Krüger, W., Die neuesten Forschungen der landwirtschaftlichen Bakteriologie. [Sonderabdruck aus Bd. XV. des „Jahrbuch der Deutschen Landwirtschafts-Gesellschaft“. Jahrg. 1900.] (Bericht, erstattet in einer gemeinschaftlichen Sitzung der Dünger- und Ackerbau-Abteilung der D. L.-G. Mit 13 Abb.)

Nachdem Krüger das Verhalten niederer Lebewesen zum Stickstoff, und zwar in seinem Verhältnis zur Ernährung der Kulturpflanzen, erörtert und dabei die verschiedenen Vorgänge geschildert hat, welche einestheils zur Bildung von für die Kulturpflanzen aufnahmefähigen Stickstoffverbindungen führen, und welche anderenteils die Zerstörung vorhandener aufnehmbarer Stickstoffverbindungen bewirken, kommt er zu näherer Besprechung derjenigen Vorgänge, welche die Salpetersäure den Pflanzen unzugänglich machen, und die sowohl im Acker wie im Dünger auftreten. Die bakteriologische Abteilung der landwirtschaftlichen Versuchstation Halle, deren Vorsteher der Berichterstatter ist, hat sich in erster Reihe mit dieser Frage, auf die Versuche von Wagner seiner Zeit die Aufmerksamkeit gelenkt haben, beschäftigt, und wenn diese Untersuchungen zunächst darauf gerichtet waren, die Ursachen dieser Erscheinungen klarzustellen, so beruhte dies vor allem auf dem Bestreben, die Vorgänge, wie sie unter verschiedenen Verhältnissen sich abspielen, aufzudecken.

Ref. führt darauf den Gang der Untersuchungen vor. Nach Beschreibung des Laboratoriumsversuchs in Glasgefäßen bespricht er den Vegetationsversuch: Bei Düngung von Vegetationsgefäßen mit Kot und Stroh tritt ein leicht bemerkbarer Ernteausfall ein, der, wie von anderer Seite behauptet worden ist, weder durch die Lockerung des Bodens, noch durch kleinste Lebewesen, die wir erst im Dünger dem Boden zuführen, hervorgerufen wird. Die

angestellten Untersuchungen haben vielmehr gelehrt, daß allerdings nur kleine Lebewesen die Ursache des Ernteausfalles sind, daß aber nicht deren Zufuhr, sondern die Zufuhr von Nährstoffquellen für sie zur Erklärung dieses Vorganges in Frage kommt. Gegen die Annahme der Lockerung als Ursache des Ernteausfalles spricht ein durch 4 Abbildungen veranschaulichter Versuch, der zeigt, daß steigende Salpetergaben denselben aufheben. Dagegen spricht ferner die Thatsache, daß in solchem gelockerten Boden in Vegetationsgefäßen Hülsenfrüchte, die vom Stickstoff unabhängig sind, sich üppig entwickeln, sowie der Umstand, daß man durch Sterilisation der Vegetationsgefäße die schädliche Wirkung der niederen Lebewesen aufheben kann. Durch naturgetreu wiedergegebene Abbildungen der Kulturversuche in Vegetationsgefäßen sind diese Thatsachen veranschaulicht.

Gegen die Annahme, daß die Zuführung von Keimen die Salpeterzersetzung befördert oder zur Folge hat, spricht, daß die Sterilisierung des Düngers nicht wirkt, sowie daß ein verrotteter Dünger die Ernteausfälle nicht hervorruft. Dies beweist Ref. sowohl durch Abbildungen, wie auch durch das zahlenmäßige Ergebnis eines darauf bezüglichen Vegetationsversuches.

Die Frage, ob es Umstände giebt, welche die Salpeterzersetzung fördern können, beantwortet Ref. dahin, daß als solche entschieden, und zwar besonders bei Vegetationsversuchen, die innigen Vermengungen gelten müssen, die man in den Gefäßen findet, ebenso der höhere Wärmegrad und ein höherer Wassergehalt.

Nunmehr bespricht Ref. die Feldversuche, welche zur Entscheidung dieser Frage angestellt wurden. Durch 2 Versuche, die er aus einer größeren Reihe von Versuchen herausgreift, und zwar ohne und mit Kotstroh, weist Ref. zahlenmäßig nach, daß auch im freien Lande eine Ernteverminderung durch Kotstroh eintritt, und schließt aus diesen Ergebnissen, daß man die Stallmistfrage jetzt von dem Gesichtspunkte aus betrachten müsse, daß man nicht allein den Stickstoff im Stallmist zu erhalten hat, sondern auch dafür sorgen muß, daß die organischen Bestandteile eine Form annehmen, in welcher sie keine Ernteverminderung hervorrufen.

Nachdem Ref. noch die Umsetzung der Stickstoffverbindungen im Boden durch gewisse niedere Pflanzen (Eiweißbildung) auf Kosten der höheren Pflanzen gestreift hat, legt er dar, wie weit seine Forschung in der Richtung der Festlegung des atmosphärischen Stickstoffs gediehen ist. Für die höheren Pflanzen, namentlich für unsere Nutzpflanzen, konnte bis jetzt kein Beweis dafür erbracht werden, daß sie den freien Stickstoff aufnehmen. Hinsichtlich der niederen Lebewesen ist zwar die Thatsache zu beobachten, daß in stickstofffreien Nährlösungen, in denen Kohlenstoffverbindungen und Salze enthalten sind, sich nicht selten Fadenpilze entwickeln, doch hat Ref. es bei solchen Versuchen nie zu einer großen Stickstoffsammlung kommen sehen. Nach seinen Versuchen sind ferner Algen für sich allein nicht imstande, den freien Stickstoff der Luft festzulegen. Wohl aber sind im Ackerboden Bakterien vorhanden, die den freien Stickstoff festlegen können, wie

zuerst Winogradsky an *Clostridium Pasteurianum* gezeigt hat. Auch dem Ref. ist es gelungen, solche Organismen aus dem Boden zu isolieren. Damit die Landwirtschaft in die Lage komme, diese Lebewesen auszunutzen und sie in ihrer Entwicklung zu fördern, hält es der Verf. für eine besonders wichtige Aufgabe der bakteriologischen Forschung, die Lebensbedingungen dieser Bakterien festzustellen, um von ihrer Lebensthätigkeit Vorteil zu ziehen.

Brühne (Halle a. S.).

Nobbe und Hiltner, Ueber die Wirkung der Leguminosenknöllchen in der Wasserkultur. (Landw. Versuchsstation. Bd. LII. 1899. p. 455–465.)

Werden Leguminosen in stickstofffreien Nährlösungen gezogen, so kommt es zwar leicht zur Knöllchenbildung, einen Nutzen vermögen aber die Pflanzen aus diesen Knöllchen nicht zu ziehen. Daß die Unwirksamkeit der Leguminosenknöllchen in Wasser nicht etwa auf Luftmangel beruht, ergibt sich aus dem Umstand, daß auch durch Einleiten von Luft oder Stickstoff in das Wurzelmedium die zahlreich vorhandenen Knöllchen nicht zur Stickstoffassimilation angeregt werden können. Verff. haben infolgedessen ihr Augenmerk darauf gerichtet, ob vielleicht die Leguminosenknöllchen in Wasser nicht zur normalen Ausbildung gelangten. Die Ergebnisse der Versuche ließen es als fast sicher erscheinen, daß das Wasser die Ausbildung der Leguminosenknöllchen meist schwer beeinträchtigt. Knöllchen von in Wasser lebenden Erbsen- und Robinia-Pflanzen wiesen eine außerordentlich lockere Korkhülle (Wasserkork) auf. Das Bakteroidengewebe war nur sehr mangelhaft entwickelt und zeigte sich im Gegensatz zu dem in wirksamen Sand- oder Erdknöllchen nicht mit Luft, sondern mit Wasser erfüllt.

Dieser Umstand brachte die Verff. auf den Gedanken, Wasserkulturen in der Weise mit geimpften Leguminosen auszuführen, daß die an den oberen Wurzelpartien ansitzenden Knöllchen außer Wasser blieben. Der erste diesbezügliche Versuch gelangte mit *Robinia Pseudacacia* zur Ausführung, und zwar in folgender Weise:

Eine größere Anzahl Robinienkeimpflänzchen wurde zunächst in eine stickstoffhaltige sogenannte „Normallösung“ eingesetzt (die Lösung enthielt: 0,168 g KCl, 0,711 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 0,129 g Mg SO_4 , 0,033 g KH_2PO_4 , 0,033 g $\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2$ p. L.) Nach 4 Wochen übertrug man 7 möglichst gleichmäßige Pflanzen in stickstofffreie Lösung (0,151 g KCl, 0,275 g Ca SO_4 , 0,214 g $\text{Ca}(\text{PO}_4)_2$, 0,138 g KH_2PO_4 , 0,122 g MgSO_4 , 0,033 g $\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2$ p. L.) Die gleiche Anzahl Pflanzen blieb in der stickstoffhaltigen Lösung. Beiderlei Kulturen wurden mit einer Reinkultur von *Robinia*-Bakterien geimpft.

Nach einiger Zeit traten an den Wurzeln in der stickstofffreien Lösung zahlreiche große Knöllchen auf; die Pflanzen in stickstoffhaltiger Lösung blieben knöllchenfrei oder zeigten nur ganz schwache Anläufe zur Knöllchenbildung. In beiden Fällen blieben die Knöllchen ohne Wirkung auf das oberirdische Wachstum, so

daß die betreffenden Pflanzen bereits nach kurzer Zeit ausgeprägten Stickstoffhunger zeigten.

Es wurde nunmehr bei zweien dieser Pflanzen das Wasser durch Sand verdrängt und auf normalen Feuchtigkeitsgehalt gebracht. Bei einer dritten Pflanze wurde die Nährlösung soweit abgegossen, daß der größte Teil der Knöllchen außer Wasser verblieb. Bereits nach 8 Tagen ergrünte die letztere Pflanze und zeigte Zuwachs. Die in Sand vegetierenden Pflanzen ergrünten etwas später und, wie es schien, durch Vermittelung neugebildeter Knöllchen.

Die weiterhin in dieser Richtung angestellten Versuche bestätigten die früher erhaltenen Resultate, daß die Knöllchen von *Robinia* in der Luft normal funktionieren, unter Wasser dagegen nahezu wirkungslos sind.

Das Versuchsergebnis scheint in nahezu unwiderleglicher Weise darzuthun, daß die Stickstoffassimilation innerhalb der Knöllchen, und nicht in den Blättern, stattfindet. Namentlich der Versuch, welcher zeigt, daß bereits kräftig stickstoffsammelnde, über Wasser befindliche Knöllchen von vorzüglicher Ausbildung und mit normalem Zuwachs fast sofort ihre Thätigkeit einstellen, sobald man sie unter Wasser bringt, dürfte hierfür beweisend sein.

Reinmann (Hildesheim).

Krüger und Schneidewind, Ursache und Bedeutung der Salpeterzersetzung im Boden. (Landw. Jahrbücher. Bd. XXIX. 1900. Heft 4—5. Mit 2 Tafeln.)

Verf. weisen zunächst darauf hin, daß ihre früher ausgesprochene Ansicht, daß auch die Salpeterzersetzung und Salpeterumsetzung bei Anwendung von frischem Stalldünger eine Rolle in der Praxis spielen, durch die Erfahrung des Landwirts, welche er häufig mit frischem Stalldünger macht, unterstützt wird. Frischer Stalldünger müßte, da er noch seine wertvollen Stickstoffverbindungen bewahrt hat, stets eine bessere Wirkung zeigen als ein alter verrotteter, welcher schon große Stickstoffverluste erlitten hat; dies ist jedoch erfahrungsmäßig nicht der Fall. Der Grund hierfür kann nur in einer Salpeterzersetzung bezw. Eiweißbildung zu finden sein, welche bei Anwendung von frischem Stalldünger auch im freien Lande eintreten muß.

Verf. berichten dann über weitere Vegetationsversuche, und zwar zuerst über Versuche über die Wirkung verschiedener Nährstoff-(Kohlenstoff-)quellen auf die Thätigkeit der salpeterzerstörenden Organismen. Die Ergebnisse waren folgende: Torf hatte die Ernte und die Stickstoffaufnahme seitens der Versuchspflanzen nicht beeinträchtigt, auch die aus dem Torf mit Kalilauge extrahierte Substanz, die die Verf. Torf-Pentosan nennen, hatte die Ernte nur in geringem Maße herabgedrückt. Baumwolle hatte zwar auch noch eine Salpeterzersetzung hervorgerufen, aber nicht in dem Maße wie die aus dem Weizenstroh nach der Weender Methode gewonnene Holzfaser. Die Wirkung dieser war auch eine größere als die des Strohes. Diesen scheinbaren Wider-

spruch erklären die Verff. damit, daß die durch wiederholte Behandlung des Strohes mit Schwefelsäure und Kalilauge gewonnene Holzfaser eine äußerst feine, lockere Masse darstelle, daß aber frühere Versuche gezeigt hätten, daß mit der Feinheit der Substanz die Salpeterzersetzung gesteigert wird. Dadurch ist es zu erklären, daß die Holzfaser bezüglich der Salpeterzersetzung das Stroh übertraf. Das Pentosan aus Weizenstroh hatte wieder, wie in früheren Versuchen, die stärkste Wirkung ausgeübt. Auch Zucker und Stärke haben einen so starken Ernteausfall hervorgerufen, daß die Ernte beinahe auf Null herabsank. Bei den letzteren Versuchen, bei denen auch verschieden hohe Gaben von Weizenstroh zum Vergleich herangezogen wurden, zeigte sich klar, daß die Erträge und Stickstoffentnahme in umgekehrtem Verhältnisse zu den Strohgaben stehen.

Bei Versuchen über die Wirkung eines verrotteten Kotstrohgemisches im Vergleiche zu einem frischen gleichen Ursprungs stellten Verff. fest, daß die beiden Kotstrohgemische in vollständig entgegengesetzter Richtung gewirkt hatten: während der Ertrag bei Anwendung des sterilen (frischen) Gemisches beinahe bis auf Null sank, hatte das verrottete eine deutliche Ernteerhöhung hervorgerufen. Im Einklang damit stehen auch die Stickstoffentnahmen. Aus diesen Versuchen, welche durch photographische Aufnahmen erläutert sind, geht also klar und deutlich die Schädlichkeit des frischen und die Nützlichkeit des verrotteten Kotstrohes hervor. Diese verschiedenen Eigenschaften der beiden Kotstrohgemische beruhen auf der von jeher von den Verff. behaupteten Thatsache, daß man mit dem frischen Kotstroh dem Boden nur Bakteriennährstoffe zuführte, mit dem verrotteten vorzugsweise nur Keime, da dasselbe den salpeterzersetzenden Organismen eine Nährstoffquelle nicht mehr bot.

Weiterhin berichten Verff. über Uebergangsversuche zu ihren Feldversuchen, welche sie 1898 und 1899 auf 1 qm großen eingemauerten Parzellen mit Senf ausführten. Gedüngt wurde mit 1,6 kg Stroh. Die Salpeterverluste waren bei der ersten Ernte sehr bedeutende und betrugen, auf den Hektar berechnet, 25,8 kg N, also etwa 1 Ctr. Chilesalpeter auf den Morgen. Aber auch bei den nächsten beiden Ernten diente das Stroh den Salpeter zerstörenden Organismen noch als Nährstoffquelle. Nach diesen und den oben angeführten Ergebnissen mit Weizenstroh, welche zeigten, daß die Salpeterverluste in direktem Verhältnisse zu den verabfolgten Stroh- und Kotgaben stehen, erklären Verff. die Annahme, daß diese Verluste bei niedrigen Düngergaben überhaupt nicht auftreten, als unberechtigt.

Um nun die durch Vegetationsversuche gefundenen Ergebnisse auf dem Felde auf ihre Richtigkeit zu prüfen, wurde auf einem gleichmäßigen Stück Land der Versuchswirtschaft Lauchstädt ein Versuch ausgeführt, der 20 Parzellen zu je 63,8 qm umfaßte. Wir können auf die Einzelheiten dieses Feldversuchs, der sich auf zwei Ernten ausdehnte, nicht eingehen, sondern wollen nur das Gesamtergebnis hier festlegen. In Summa der beiden Ernten wurden auf

den Kotparzellen, Kotstroh- und Strohpargellen folgende Minderernten an Trockensubstanz und Stickstoff festgelegt:

Gegen ungedüngt:			
	Frische Substanz dz	Trockensubstanz dz	Stickstoff kg
Kuhkot	— 12,5	— 0,6	— 1,83
Weizenstroh	— 70,7	— 8,8	— 20,14
Pferdekot	— 39,1	— 1,6	— 3,51
Gegen Harn:			
Harn + Kuhkot + Weizenstroh	— 75,0	— 7,5	— 27,89
Gegen Salpeter:			
Salpeter + Stroh	— 68,5	— 5,9	— 25,91

Aus den vorstehenden Zahlen geht klar die Bedeutung der bei einer frischen Stallmistdüngung auftretenden Zersetzung bzw. Umsetzung des Salpeters oder Harns hervor, also auch auf freiem Felde werden durch frische Kotarten und Stroh Ernte und Stickstoffaufnahme wesentlich herabgedrückt.

In ihrem Berichte stellen dann die Verff. den Vegetationsversuch in Vergleich zum Feldversuch, indem sie neben dem Feldversuch mit derselben Erde, welche dem den Lauchstädter Versuchspargellen unmittelbar angrenzenden Boden entnommen wurde, und mit demselben Düngermaterial einen Vegetationsversuch ansetzen. Der Vergleich zeigt, daß dieselben Erscheinungen wie beim Feldversuch sich eingestellt hatten, nur waren die Unterschiede zwischen den ungedüngten und gedüngten Gefäßen, wie erwartet, bei weitem größer als beim Feldversuch.

Aus einer zum Vergleich des Feldversuchs (erste Ernte) mit dem Vegetationsversuch aufgestellten Tabelle ersieht man, daß die Erträge bei den Gefäßen, welche Kot, Stroh oder ein Gemisch der beiden nicht erhalten hatten, sich nicht sehr erheblich von den korrespondierenden auf dem Felde unterscheiden, nur der Stickstoff wurde in den Gefäßen etwas besser ausgenutzt als auf dem Felde. Im Gegensatz hierzu sind die Ernten und Stickstoffaufnahmen bei den mit Kot und Stroh gedüngten Gefäßen erheblich niedriger als bei den entsprechenden Feldpargellen. Ist nun auch durch die Feldversuche festgestellt, daß auch auf freiem Felde die Salpeterzerersetzung oder Salpeterumsetzung von nicht zu unterschätzender Bedeutung ist, so weisen Verff. doch angesichts des verschiedenen Grades der Ergebnisse mit Recht darauf hin, daß das Resultat eines Vegetationsversuchs zahlenmäßig nicht direkt auf die Praxis übertragen werden darf.

Nachdem Verff. noch einen Rückblick auf den Gang ihrer Untersuchungen geworfen haben, behandeln sie am Schlusse ihrer Arbeit die Stalldüngerbehandlung unter Berücksichtigung der Vorgänge im Boden.

Bruhne (Halle a. S.).

Buchner, Eduard, Bemerkungen zur Arbeit von Macfadyen, G. H. Morris und S. Rowland: „Ueber aus-

gepreßtes Hefezellplasma (Buchner's Zymase)⁴. (Ber. deutsch. chem. Gesellsch. 1900. Jahrg. 33. p. 3311—15.)

Buchner wendet sich gegen die Mitteilung genannter Autoren, welche eine Reihe von Litteraturangaben nicht berücksichtigten und spricht über die Zulässigkeit der Schlußfolgerungen derselben über die Brauchbarkeit der von denselben mitgeteilten Zahlenangaben Zweifel aus; zunächst kritisiert Verf. die Angabe, daß „im ganzen genommen aus Rohrzucker mehr Kohlendioxyd erhalten wird, als aus irgend einem anderen Zucker“. Preßsaft aus untergärer Bierhefe vergärt Maltose, Saccharose, die Glukose und d-Fruktose gleich rasch. Wenn die Angaben der Autoren richtig wären, bestände ein Unterschied zwischen Preßsaft aus Ober- und Unterhefe. Aus den mitgeteilten Zahlen würde sich ergeben, daß der Preßsaft der Hefe aus der gleichen Brauerei das einermal aus Dextrose etwa doppelt so viel Kohlendioxyd liefert, wie aus Maltose, in einem anderen Versuch würde jedoch Maltose doppelt so rasch vergären als Dextrose, dabei war im zweiten Versuch die Hefe nur um einen Tag älter.

Ueber den Einfluß verschiedener Antiseptica, speciell von Toluol und Thymol, ist bisher festgestellt, daß Preßsaft aus Münchener Unterhefe durch Toluolzusatz bezüglich der Gärkraft kaum merklich geschädigt wird, und daß Preßsaft aus Berliner Unterhefe V durch Thymol nicht mehr (eher weniger) gehemmt wird als durch Toluol. Die Zahlen hätten überhaupt nicht publiziert werden sollen.

Um über die Zymase des Hefepreßsaffes zu urteilen, haben die Autoren meistens Säfte mit ganz geringer Gärwirkung benutzt. Soweit die verschiedenen Versuchsbedingungen einen Vergleich zulassen, sind von den 17 Versuchen der Tabelle II nur drei mit etwa gleich gärkräftigem Preßsaft durchgeführt, wie ihn die Münchener Unterhefe gewöhnlich liefert, von den 7 Versuchen der Tabelle III nur einer, von den 12 Versuchen der Tabelle IV nur acht; alle übrigen Preßsäfte dieser Tabelle zeigen höchstens die halbe, bis herab zu spurenhafter Gasentwicklung.

Die Antisepsis ist bei sämtlichen Versuchen, die weniger als 20 Proz. Zucker enthalten, also in den meisten der Tabelle IV—XI, bei der Versuchstemperatur von 25° nicht mehr gesichert. Ein direkter Versuch ergab R. Albert, daß sich in Hefepreßsaft bei Zugabe von 10 Proz. Rohrzucker und 1 Proz. Thymol bei 22° Bakterien reichlich entwickeln können. Eine Angabe über die dauernde Sterilität der Versuchsflüssigkeiten fehlt in der Abhandlung der Autoren.

Hinsichtlich der sogenannten Selbstgärung des Preßsaffes weist Buchner auf die von ihm und Rapp veröffentlichte Tabelle XXXVII hin, aus welcher sich ergibt, daß Preßsaft aus der sehr gleichmäßigen Abfall-Unterhefe der Münchener Brauereien regelmäßig in 4 Tagen auf 20 ccm bis 0,1 g Kohlensäure entwickelt, also etwa 10 Proz. der Gärleistung eines mäßig guten Preßsaffes bei Zuckerzusatz.

Auf Veranlassung Buchner's hat Emil Jürgermann an 4 nicht aufeinander folgenden Tagen die sogenannte Selbstgärung

des Preßsaftes aus frischer Berliner untergäriger Bierhefe S bestimmt und verglichen mit der Gärwirkung desselben Saftes nach Zusatz von Rohrzucker bis zu 28 Proz. Gehalt. Der Preßsaft aus Unterhefe S zeigte die Erscheinung der sogenannten Selbstgärung in etwas höherem Maße als der aus Münchener Abfallhefe, was durch höheren Glykogengehalt der verarbeiteten Hefe bedingt sein dürfte. Die Zahlen überschreiten jedoch auch hier nicht den 10. Teil der Menge Kohlendioxyd, die gärkräftiger Saft aus Zucker liefert.

H. Will (München).

Spitta, O., Untersuchungen über die Verunreinigung und Selbstreinigung der Flüsse. (Archiv für Hygiene. Bd. XXXVIII. 1900. p. 161 und 215.)

Die Arbeit zerfällt in 3 Teile, deren erster den Flußplankton behandelt, während der zweite sich mit den oxydativen Vorgängen im Flußwasser und der dritte mit den Verhältnissen des Flußbodens beschäftigt. S. hat, in Ausführung eines Gedankens von Rubner, die Hensen'sche Methode der Planktonuntersuchung müsse sich auch für die Lösung hygienischer Fragen, im besonderen für die Frage der Flußverunreinigung und Selbstreinigung der Flüsse verwenden lassen, die vorliegenden Untersuchungen unternommen. Es kam ihm dabei nicht auf Details an; er wollte nur einen Ueberblick gewinnen über die allgemeine Zusammensetzung des treibenden schwimmenden Materials der Flüsse an verschiedenen Stellen des Laufes und zu verschiedenen Jahreszeiten, und er erwartete, daß bei der quantitativen Untersuchung des pflanzlichen und tierischen Planktons des Flusses sich Verschiedenheiten ergeben könnten welche auf die Flußselbstreinigung Licht werfen würden. In diesem Sinne untersuchte Spitta die Spree und Havel bei Berlin und den Rhein von Marienburg bei Köln bis Vollmerswerth. Die mühevollen, an interessanten Einzelheiten sehr reiche Arbeit läßt sich schwer inhaltlich wiedergeben; es seien im folgenden nur einige Resultate hervorgehoben.

Für das Ideal der Flußwasserreinigung erklärt Verf. die Mineralisierung und Vergasung der organischen Verunreinigungen. Dieselbe kann nur vor sich gehen bei genügendem Sauerstoffgehalt des Wassers bez. mäßiger Belastung eines Flusses mit Abfallstoffen. Ein schnell fließender Strom nimmt aus der Atmosphäre mehr Sauerstoff auf als ein träge hinfließendes Gewässer, denn Strömung und Wellen befördern die Absorption, zugleich wird durch Ausdehnung der Sedimentierung auf eine längere Strecke die Masse der organischen Abfallstoffe auf ein größeres Stromgebiet verteilt und kann demnach besser bewältigt werden. Ein langsam fließender Fluß vermag für die mitgeführte Menge organischer Substanz sein Sauerstoffbedürfnis aus der Atmosphäre nicht zu befriedigen. Als Folge der Kohlensäureanhäufung stellt sich eine üppige Algen- und Diatomeenflora ein; diese unterstützt durch ihre Sauerstoffproduktion die Oxydation der organischen Substanzen durch die Bakterien. Eine indirekte Beteiligung ist somit dem chlorophylltragenden Plankton nicht abzuspochen; direkte Vernichtung or-

ganischer Stoffe scheint dagegen zurückzutreten. Jedenfalls erscheinen die Algen nicht in jedem Falle als notwendiges Glied in der Kette von Mitteln, welche einem verunreinigten Flusse zu einem früheren Reinheitsgrade wieder verhelfen.

Als Ergänzung zur quantitativ-bakteriologischen Untersuchung eines Wassers empfiehlt S. die Feststellung der Sauerstoffzehrung in einer bestimmten Zeit. Als ihre Vorteile bezeichnet S.: 1) Benutzung einer größeren Wassermenge, 2) Feststellung der Wirkung der Mikroorganismen an Stelle ihrer Zahl unter natürlichen Verhältnissen (Ausschluß künstlicher Nährböden), 3) leichte Ausführbarkeit der Methode an Ort und Stelle, wie auch nach geraumer Zeit im Laboratorium.

Die Sauerstoffzehrung im Wasser kann zwar sowohl der Oxydation der organischen Substanzen durch die Bakterien wie rein chemischen Umsetzungen ihre Entstehung verdanken, doch spielen letztere nach S. nur eine untergeordnete Rolle.

Die Bodenreinigung der Flüsse vollzieht sich bis zu einem gewissen Grade ebenso wie die Selbstreinigung des freien Erdbodens, nur daß beim Fluß die löslich gewordenen Stoffe durch Auslaugung permanent entfernt werden. Die stickstoffhaltigen Stoffe verfallen der Nitrifikation, die Kohlehydrate, mit Ausnahme der Cellulose, werden leicht zerlegt und die Fette gespalten und teils weiter zerlegt, teils verseift. An Stellen großer Verschmutzung kann der Sauerstoffgehalt des Flusses gänzlich aufgezehrt werden. Es kann dann von einer Selbstreinigung des Bodens keine Rede mehr sein und es tritt die Thätigkeit der anaëroben Bakterien hervor: die Gärung der Massen, die stinkende Zersetzung. Dieselbe dokumentiert sich durch Gasbildung. Sie geht Hand in Hand mit der Schlammbankbildung. Der größte Gasvorrat findet sich an den Stellen starker Verschmutzung, aber auch anscheinend reine Flußgebiete sind nicht gasfrei. Die Schlammbankbildung ist eine sehr langlebige Quelle der Verunreinigung der Flüsse, selbst wenn andere schädliche Faktoren aufgehört haben zu wirken. Das Wasser laugt die durch Fäulnis entstandenen Stoffe aus und führt sie mit fort, jedes Dampfschiff wirbelt die Massen auf. S. ist der Ansicht, daß in der Spree die abgelagerten Massen noch zum Teil aus der Zeit herrühren, wo die Stadt ganz oder teilweise noch dem Strome zu entwässerte. Der starke Schiffsverkehr verhindert durch Zuführen von großen fäulnisfähigen Massen und durch Aufwühlen der zu Boden gesunkenen Teile eine Besserung. Eine solche könnte nur durch Ausbaggern erzielt werden.

Schill (Dresden).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. ARTHUR WÜRZBURG,
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

- Brick, C.**, Bericht über die Thätigkeit der Abteilung für Pflanzenschutz im Jahre 1899. (Botan. Museum, Abt. f. Pflanzenschutz, zu Hamburg II. 1899/1900. Hamburg 1900. p. 1—3.)
- Chomienne**, Le laboratoire départemental de bactériologie de Constantine. [Thèse.] Montpellier 1900.
- Curtis, H. J.**, The essentials of practical bacteriology. An elementary laboratory book for students and practitioners. 8°. 308 p. London (Longmans) 1900. 9 sh.
- Luton, E. M.**, A bacteriologist a necessity to a local board of health. (Proceed. and addresses of the 4. general confer. of the Health Officers in Michigan. 1899. p. 29—31.) gr. 8°. Lansing 1900.
- M'Clintock, Ch. T.**, Bacteriology in its relations to the public health. (Proceed. and addresses of the 4. general confer. of the Health Officers in Michigan. 1899. p. 24—29.) gr. 8°. Lansing 1900.
- Moore, V. A.**, Laboratory directions for beginners in bacteriology. An introduction to practical bacteriology for students and practitioners of comparative and human medicine. 2. ed. 16, 143 p. Illustr. Boston (Ginn) 1900. 1,05 \$.
- Novy, F. G.**, Bacteriology in its relations to public health. (Proceed. and addresses of the 4. general confer. of the Health Officers in Michigan. 1899. p. 17—24.) gr. 8°. Lansing 1900.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

- Guéchoff**, La méthode des sacs de collodion appliquée à l'étude du bacille d'Eberth et du bacille coli. [Thèse.] Montpellier 1900.
- Jundell, J.**, Ny apparat för bakteriernas oskadliggörande i mjölk och dess hygieniska betydelse enlikt undersökning vid applikation till G. Salenii radiator. (Nord. med. ark. 1900. Häft 3. No. 14. p. 1—16.)
- Sicha, Fr.**, Klebgürtel und Obstmadenfallen. (Obstgarten. 1900. No. 10, 11. p. 147—151, 161—164.)
- Springfeld**, Die Improvisierung transportabler Formaldehydentwickler. (Ztschr. f. Medizinalbeamte. 1900. No. 24. p. 784—785.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

- Aderhold, E.**, Die Fusicladien unserer Obstbäume. II. Teil. (Landwirtschaftl. Jahrb. 1900. Heft 4/5. p. 541—589.)
- Ascoli, A.**, Ueber ein neues Spaltungsprodukt des Hefenucleins. (Hoppe-Seyler's Ztschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXXI. 1900. Heft 1/2. p. 161—164.)
- Bau, A.**, Ist für die Spaltung der Melitriose in Melibiose und d-Fructose durch Organismen ein besonderes Enzym anzunehmen? (Ztschr. f. Spiritusindustrie. 1900. No. 51. p. 469.)
- Bokorny, Th.**, Einiges über die Hefe als Fermentträger. (Naturwissenschaftl. Wchschr. 1900. No. 50. p. 589—591.)
- van Breda de Haan, J.**, Vorläufige Beschreibung von Pilzen bei tropischen Kulturpflanzen beobachtet. ('s Lands Plantentuin. Bullet. de l'Institut botan. de Buitenzorg. 1900. No. 4. p. 11—13.)
- Colledge, W. E.**, Observations on the life history of the common mosquito. (Proceed. of the Royal soc. of Queensland. Vol. XV. 1900. p. 111—131.)
- Göbl, Chr.**, I. Ueber einen neuen parasitischen Pilz, Rhizidiomyces Ichneumon nov. sp. und seinen Nährorganismus, Chloromonas globulosa (Perty). II. Fulminaria mucophila nov. gen. et sp. (Ex scriptis botan. horti Univers. Imper. Petropolitanae. 1899. Fasc. 15. p. 251—272, 283—293.)
- Halsted, B. D.**, Notes upon grape mildew (Plasmopara viticola B and C). (Asa Gray bullet. Vol. VIII. 1900. No. 4. p. 78—79.)

- Henneberg, W.**, Variation einer untergärigen Hefe während der Kultur. (Wchschr. f. Brauerei. 1900. No. 43. p. 633—634.)
- Molliard, M.**, Sur quelques caractères histologiques des cécidies produites par l'*Heterodera radicola* Greff. (Rev. génér. de botan. 1900. No. 136. p. 157—165.)
- Beh, L.**, Die Beweglichkeit von Schildlauslarven. (Botan. Museum, Abt. f. Pflanzenschutz, zu Hamburg. II. 1899/1900. Hamburg 1900. p. 1—6.)
- Euhland, W.**, Ueber die Ernährung und Entwicklung eines mykophtoren Pilzes (*Hypocrea fungicola* Karst.). (Sep.-Abdr. a. Abhandl. d. botan. Vereins d. Prov. Brandenburg. 1900. p. 53—65.)
- Seurat, L. G.**, Moeurs de deux parasites des chenilles de l'*Agrotis segetum*. (Bullet. du muséum de l'histoire natur. T. V. 1899. No. 3. p. 140.)
- Sitnikoff, A. u. Rommel, W.**, Vergleichende Untersuchungen über einige sogenannte *Amylomyces*-Arten. (Wchschr. f. Brauerei. 1900. No. 42. p. 621—625.)
- Smith, A. Lorrain**, Some new microscopic fungi. (Journ. of the Royal microsc. soc. 1900. Part 4.)
- Tournier**, Ueber die reine Hefe. (Arch. f. öffentl. Gesundheitspfl. in Elsaß-Lothringen. Bd. XX. 1900. Heft 1/2. p. 9—12.)
- Tower, W. L.**, The Colorado potato beetle. (Science. N. S. Vol. XII. 1900. No. 299. p. 238—240.)
- Walsingham**, A gall-making coleophora (*Stefanii* de Joannis). (Entomol. monthly magaz. 1900. March. p. 59—60.)
- Weis, Fr.**, Ueber das proteolytische und ein eiweiß-koagulierendes Enzym in keimender Gerste (Malz). (Hoppe-Seyler's Ztschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXXI. 1900. Heft 1/2. p. 79—97.)
- Zehntner, L.**, Nieuwe parasiten der borders. (Arch. v. de Java-Suikerind. 1900. Aflev. 15. 12 p.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft und Wasser.

- Gasser, J.**, L'analyse biologique des eaux potables. Petit 8°. Paris (Masson & Cie.) 1900. 2,50 fr.

Nahrungs- und Genußmittel, Gebrauchsgegenstände.

Milch, Molkerei.

- Johnson, J. O.**, Milk supply. (Proceed. and addresses of the 4. general conference of the Health Officers in Michigan. 1899. p. 124—128.) gr. 8°. Lansing 1900.
- Rasmussen, H. J.**, Anvendelse af rendyrkede Mikrober ved Ostens Modning. (Mælkeritidende. 1900. No. 49. p. 839—849.)
- Botch, T. M.**, Milk; its production, its care, its use. (Proceed. and addresses of the 4. general conference of the Health Officers in Michigan. 1899. p. 132—136.) gr. 8°. Lansing 1900.

Bier, Brauerei.

- Heinzelmann, G.**, Schimmeliges Malz. (Ztschr. f. Spiritusindustrie. 1900. No. 43. p. 392—393.)

Wein, Weinbereitung.

- Kooh, A.**, Ueber die Ursachen des Verschwindens der Säure bei Gärung und Lagerung des Weines. (Weinbau u. Weinhandel. 1900. No. 40—42. p. 395—396, 407—408, 417—419.)
- Müller-Thurgau, H.**, Behandlung der Weine nach der Gärung. (Schweiz. Ztschr. f. Obst- u. Weinbau. 1900. No. 23. p. 362—367.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

- Brick, C.**, Ergänzungen zu meiner Abhandlung über „das amerikanische Obst und seine Parasiten“. (Botan. Museum, Abt. f. Pflanzenschutz, zu Hamburg. II. 1899/1900. Hamburg 1900. p. 1—19.)
- Marshall, G. A. K.**, Fruit damaged by moths in South Africa. (Entomol. monthly magaz. 1900. Sept. p. 207—208.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

- Bruns, H.**, Ueber Zimmerdesinfektion vermittelt des Formalins. (Arch. f. öffentl. Gesundheitspl. in Elsaß-Lothringen. Bd. XX. 1900. Heft 1/2. p. 57—67.)
- Davies, A. M.**, The biological treatment of sewage. (Indian med. Gaz. 1900. No. 11. p. 417—422.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserrgende Bakterien und Parasiten.

- van Breda de Haan, J.**, Vorläufige Beschreibung von Pilzen, bei tropischen Kulturpflanzen beobachtet. (Bullet. de l'Institut. botan. de Buitenzorg. 1900. No. 6. p. 11—13.)
- Cavassa, D.**, Le ampelopatie più gravi nella nostra regione. (Annali e ragguagli d. uffic. provinc. per l'agricolt. d. r. laborat. chim.-agrar. e d. comiz. agrar. di Bologna 1898/99.)
- , Si lotta contro la fillossera nel 1898. (Ibid.)
- Convert, F.**, La viticulture après 1870. III. La lutte contre le phylloxéra. (Rev. de viticult. 1900. No. 358. p. 449—452.)
- Del Guercio, G.**, Sulla dominante infezione della mosca delle olive e sui provvedimenti con i mezzi più adatti per limitarne la diffusione. (Atti d. r. acad. economico-agrar. d. georgofili di Firenze. Vol. XXIII. 1900. Ser. 4. Disp. 1.)
- Denkschrift, 21.**, betreffend die Bekämpfung der Reblauskrankheit 1898. Bearbeitet im kaiserl. Gesundheitsamte. gr. 4°. 209 p. Mit 4 Blatt Karten. Berlin 1900.
- Heckel, E.**, Sur le parasitisme du Ximenia americana L. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXI. 1900. No. 19. p. 764—765.)
- Hertsog, A.**, Die Wurzelfäule. (Weinlaube. 1900. No. 38. p. 447—448.)
- Jacobi, A.**, Der Schwammspinner und seine Bekämpfung. 4 p. m. 2 Abbildgn. (Flugbl. d. kais. Gesundh.-A., biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtsch. 1900. No. 6.) gr. 8°. Berlin (Paul Parey — Julius Springer) 1900. 0,05 M.
- v. Jaczewski, A.**, Ueber die Pilze, welche die Krankheit der Weinreben „Black-Rot“ verursachen. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. X. 1900. Heft 5. p. 257—267.)
- Laurent, A.**, La cochylis dans le Bas-Grésivaudan. (Rev. de viticult. 1900. No. 357. p. 421—424.)
- Mayer, H.**, Wie schützt man den Weizen vor Brand? (Landwirtschaftl. Ztschr. f. Elsaß-Lothringen. 1900. No. 41. p. 561.)
- Mohr, K.**, Bericht über die im Sommer 1899 angestellten Versuche behufs Bekämpfung pflanzlicher Schmarotzer auf Reben und Kernobst. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. X. 1900. Heft 5. p. 270—274.)
- , Die Pflanzenschutzmittel und die Geheimmittel. (Ibid. p. 314—315.)
- Notizie fillosseriche locali: situazione fillosserica a Redavalle e dintorni. 16°. 18 p. Voghera (Tip. Rusconi, Gavi, Nicosini succ. Gatti) 1900.
- Ormerod, E. A.**, Flies injurious to stock. Being life histories and means of prevention of a few kinds commonly injurious, with special observations on Ox Warble or Bot Fly. 8°. 88 p. London (Simpkin) 1900. 6 d.
- Passerini, M.**, Sulle cause che rendono le piante coltivate oggi più che in passato soggette ai danni dei parassiti. (Atti d. r. accad. economico-agrar. d. georgofili di Firenze. Vol. XXIII. Ser. 4. 1900. Disp. 1.)
- Passerini, M.**, Sui rapporti fra gli uccelli, gli insetti e le piante coltivate. Proposte per la protezione della selvaggina. (Atti d. r. accad. economico-agrar. d. georgofili di Firenze. Vol. XXIII. 1900. Ser. 4. Disp. 1.)
- Peglion, V.**, La fillossera della vite. Nozioni sommarie intorno alla questione fillosserica in Italia. 8°. 44 p. Avellino (Eduardo Pergola) 1900.
- Peglion, V.**, La peronospora del frumento. (Bollett. di notiz. agrar. 1900. No. 24. p. 1063—1067.)
- Perraud, J.**, Note sur une nouvelle maladie de raisons. (Vigne franç. 1900. No. 18. p. 287—288.)
- Perugia, A. S.**, L'afide lanigero (Schizoneura lanigera Hausm.). (Estr. d. Giorn. di agricolt. d. domenica. 7 p. Fig.) 8°. Piacenza (Tip. V. Porta) 1900.
- Pommerol, F.**, La chenille du pommier et ses ennemis naturels. Petit 8°. 24 p. Clermont-Ferrand (Impr. Mont-Louis) 1900.

- Portele, K.**, Zur Bekämpfung des Oidiums. (Weinlaube. 1900. No. 45. p. 529—530.)
- Schloesing, Les maladies de la vigne (mildiou et black rot) et leur traitement. — La bouillie bordelaise Schloesing.** (Rev. de viticult. 1900. No. 360. Suppl.)
- Schmoderer, K.**, Etwas über den Traubenwurm. (Landwirtschaftl. Ztschr. f. Elsaß-Lothringen. 1900. No. 41. p. 561—562.)
- v. Schrenk, H.**, Two diseases of red cedar caused by *Polyporus juniperinus* n. sp. and *Polyporus carneus* Nees. [A preliminary report.] (U. S. Departm. of Agricult. Divis. of veget. physiol. and pathol. Bullet. No. 21.) gr. 8°. 22 p. Washington 1900.
- Seymour, A. E.**, A cluster-cup fungus on *Lespedeza* in New England. (Rhodora. Vol. II. 1900. No. 21. p. 186.)
- Sorauer, F.**, Die Empfänglichkeit der Pflanzen für Schmarotzerkrankheiten. (Illustr. landwirtschaftl. Ztg. 1900. No. 91. p. 870—871.)
- Stampff**, Die Schütte und ihre Bekämpfung. (Ztschr. f. Forst- u. Jagdwesen. 1900. Heft 11. p. 675—687.)
- Taschenberg, E. L.**, Schutz der Obstbäume gegen feindliche Tiere und gegen Krankheiten. 1. Bd. Schutz der Obstbäume gegen feindliche Tiere. Im Auftrag des deutschen Pomologenvereins bearb. 3. Aufl. von O. Taschenberg. gr. 8°. X. 341 p. m. 75 Abbildgn. Stuttgart (Eugen Ulmer) 1900. 4,80 M.
- Trübawetter**, Zur Frage der Kieferschütte. (Forstwissenschaftl. Centralbl. 1900. Heft 9/10. p. 481—483.)
- v. Tubeuf, C.**, Frhr., Ueber die Biologie, praktische Bedeutung und Bekämpfung des Weymouthskiefern-Blasenrostes. (Flugbl. des kaiserl. Gesundheitsamt., biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtsch. No. 5.) gr. 8°. 4 p. m. 1 farb. Taf. Berlin (Paul Parey — Julius Springer [Auslieferung durch P. Parey]) 1900. 0,10 M.
- —, Studien über die Schüttekrankheit der Kiefer. (Arb. a. d. biolog. Abt. f. Land- u. Forstwirtsch. a. kaiserl. Gesundh.-A. Bd. II. 1901. Heft 1. p. 1—178.)
- Weiß, Kupfer und Schwefel in der Pflanzenheilkunde.** (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1900. Heft 8. p. 61—62.)
- Weiß, J. E.**, Beobachtungen und Erfahrungen auf dem Gebiete der Pflanzenkrankheiten während des Sommers 1900. (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1900. Heft 10. p. 73—76.)

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

- Meyer, J.**, Ueber Einwirkung flüssiger Luft auf Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Bd. XXVIII. No. 18. p. 594—595.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

- Beijerinck, M. W.**, Anhäufungsversuche mit Ureumbakterien. Ureumspaltung durch Urease und durch Katabolismus. (Orig.), p. 33.
- Jones, L. E.**, *Bacillus carotovorus* n. sp., die Ursache einer weichen Fäulnis der Möhre. (Orig.) [Schluß], p. 61.

Referate.

- Buchner, Eduard**, Bemerkungen zur Arbeit von Macfadyen, G. H. Morris und S. Rowland: „Ueber ausgepresstes Hefezellplasma (Buchner's Zymase)“, p. 73.

- Kröger, W.**, Die neuesten Forschungen der landwirtschaftlichen Bakteriologie, p. 68.
- Kröger u. Schneidewind**, Ursache und Bedeutung der Salpeterzersetzung im Boden, p. 71.
- Nobbe u. Hiltner**, Ueber die Wirkung der Leguminosenknöllchen in der Wasserkultur, p. 70.
- Spitta, O.**, Untersuchungen über die Verunreinigung und Selbstreinigung der Flüsse, p. 75.

Neue Litteratur, p. 77.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Prof. Dr. J. Behrens in Weinsberg i. W.,
Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Dr. v. Freudenreich in Bern, Privatdocent
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Dr. G. Harris Morris
in London, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädenswil, Dr. Erwin F. Smith in
Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr.,
Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel
und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg.

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VII. Band. Jena, den 7. Februar 1901. No. 3.

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen. Nachdruck verboten.

**Neue Untersuchungen über die Wirkung von salpeter-
zerstörenden Bakterien in Nährlösungen.**

[Agrikultur-chemisches Laborator. der Universität Königsberg.]

Von A. Stutzer.

Im Heft 1 der „Mitteilungen der landwirtschaftlichen Institute der Universität Breslau“ wurde im vorigen Jahre über Versuche berichtet, die ich mit denitrifizierenden Bakterien angestellt hatte. Dieselben ergaben im wesentlichen folgendes:

1) Erhalten die Bakterien eine Nährlösung, welche im Liter enthält: 10 g Glukose, 5 g Pepton, 5 g Fleischextrakt, 1 g K_2HPO_4 , 2,5–3,0 g KNO_3 , so vermehren sich die Organismen, aber sie zersetzen den Salpeter unter Freiwerden von N nicht.

2) Eine schnelle Zersetzung des Salpeters, unter Freiwerden von N trat ein, wenn statt der Glukose das Salz einer organischen Säure (Milchsäure) genommen wurde.

3) Ließ man die salpeterzerstörenden Bakterien mehrere Tage lang in einer Lösung wachsen, welche die Zusammensetzung der unter 1 erwähnten hatte, jedoch mit dem Unterschiede, daß der Salpeter erst dann zugesetzt wurde, wenn die Bakterien in der Flüssigkeit gewachsen waren, so fand — bisweilen allerdings erst nach längerer Zeit — eine Vernichtung des Salpeters unter Freiwerden von N statt.

4) War die unter 1 erwähnte Nährlösung mit *B. prodigiosus*, oder *mycoides*, oder *subtilis*, oder *lact. aërogenes* geimpft, nach Verlauf mehrerer Tage sterilisiert, dann mit denitrifizierenden Bakterien geimpft, so war der Salpeter zerstört. War an Stelle der zuerst genannten Bakterien *B. megatherium* genommen, so trat nach der späteren Impfung mit denitrifizierenden Bakterien keine Zersetzung des Salpeters ein.

Gegen diese Mitteilungen wendete sich H. Jensen (siehe dieses Centralbl. Bd. V. p. 716) und möchte ich auf folgende Angaben des Autors hinweisen.

Nach Jensen ist die Denitrifikation ein mit der Vermehrung der Bakterien verknüpfter Vorgang. In einer Lösung, welche in 1 Liter enthielt: 5 g Pepton, 5 g Fleischextrakt, 10 g Glukose, 1 g Kaliumphosphat, 2,5 g Salpeter wurde durch die denitrifizierenden Bakterien in 2–3 Tagen der Salpeter vollständig zerstört, war dagegen der Salpeter erst 4 Tage nach der geschehenen Impfung zugesetzt, so ist zwar eine schwache Schaumbildung beobachtet, aber es kam nicht zu einer vollständigen Zerstörung des Salpeters. Diese Angaben decken sich demnach mit meinen Beobachtungen nicht.

Ich habe die Versuche jetzt etwas ausführlicher wiederholt und zwar mit 4 verschiedenen denitrifizierenden Bakterien: *B. agilis*, *nitrovorus*, *Stutzeri*, *Hartlebi*.

Die verwendeten Nährlösungen waren stets schwach alkalisch und enthielten in 1 Liter folgende Substanzen gelöst: 10 g Glukose, 5 g Pepton, 5 g Fleischextrakt (vom Fleischextrakt *Cibils* wurden, weil flüssig, 10 g verwendet), ferner sind genommen: 1 kg K_2HPO_4 , 10 g Kaliumcitrat.

Bei den einzelnen, nachstehend erwähnten Versuchsreihen wurde bald diese, bald jene Substanz fortgelassen, mit Ausnahme des Kaliumphosphates, welches stets gegeben ist. (Unter Nummer 4, 10, 15 werden besondere Angaben über die Zusammensetzung der betreffenden Nährlösungen gemacht.) Je 10 ccm der Nährlösung wurden in Reagenzgläser gefüllt, sterilisiert, mit denitrifizierenden Bakterien geimpft, und die Kulturen in einen auf 25° erwärmten Thermostaten gestellt. Das Impfmateriale stammte von Kolonien

der denitrifizierenden Bakterien auf Peptonagar her. Anteile dieser Kolonien wurden in die unter 14 erwähnte Nährlösung übertragen und, nachdem sie den Salpeter vollständig zersetzt hatten, diente eine große Platinöse voll von dieser flüssigen Kultur zur Impfung der zu den Versuchen benutzten Nährflüssigkeiten.

Zuerst ermittelte ich die Wirkung stickstoffhaltiger Substanzen, da solche als Zusatz zu den stickstofffreien Nährstoffen dienen mußten.

1. Die Wirkung von Pepton.

Die Nährlösung enthält, außer dem stets gegebenen Kaliumphosphat, nur Pepton und Salpeter. Die Organismen vermehren sich, aber nicht erheblich. Der Salpeter wird nicht zerstört. Schaumbildung nicht beobachtet. Versuchsdauer 3 Wochen. Nun verwendete ich einen Tropfen der Kultur zur Impfung der Nährlösung 13. Die Denitrifikation verläuft jetzt in normaler Weise. Die denitrifizierenden Bakterien waren also in der Peptonlösung wochenlang lebensfähig geblieben, hatten aber dort keine Wirkung auf den Salpeter ausgeübt.

2. Die Wirkung von Fleischextrakt.

Die Nährlösung enthält bei den einzelnen Versuchsreihen verschiedene Sorten von Fleischextrakt und außerdem Salpeter.

Versuchsreihe a. Fleischextrakt Liebig. *B. Hartlebi* hat in dreimal 24 Stunden den Salpeter unter Schaumbildung vollständig zersetzt. Die 3 anderen Bakterienarten verursachen in den ersten Tagen zwar eine sehr schwache Schaumbildung, jedoch bleibt auch nach längerer Zeit die Nitratreaktion eine sehr starke. In allen Kulturen vermehren sich die Organismen und bleiben sie lebensfähig. (Die Prüfung auf ihre Lebensfähigkeit wurde stets, wie unter 1 angegeben, ausgeführt.) Versuchsreihe b. Fleischextrakt von Schülke und Meyer.

Ergebnis: Die Organismen vermehren sich, indes ist keine der 4 Arten imstande den Salpeter zu vernichten. Die mit *B. Hartlebi* geimpften Kulturen bilden Schaum, aber es trat nach Verlauf von 3 Wochen die Salpeterreaktion noch ein, so daß die Zersetzung des Salpeters vermutlich eingeleitet, jedoch nicht vollendet wurde.

Versuchsreihe c. Fleischextrakt Cibils. Alle 4 Arten der denitrifizierenden Bakterien lassen den Salpeter unverändert. Die Organismen vermehren sich nur schwach, sie waren nach Verlauf mehrerer Wochen noch lebensfähig.

3. Die Wirkung von Pepton und Fleischextrakt.

Die Nährlösung enthält: Pepton, Fleischextrakt (von Schülke und Meyer) und Salpeter. Die Versuchsergebnisse sind die gleichen, wie sie unter 2b angegeben wurden.

4. Die Wirkung von Kreatin.

Die Nährlösung enthält, auf 1 Liter berechnet, folgende Substanzen gelöst: 2,5 g Kreatin, 1 g K_2HPO_4 , 3 g KNO_3 . Die Organismen zeigen in dieser Nährlösung bei einigen Versuchen eine äußerst schwache Vermehrung und Trübung, bei anderen

Versuchen war solche nicht zu beobachten. Schaumbildung tritt nicht ein, der Salpeter wird nicht verändert.

5. Die Wirkung der Glukose.

Neben Glukose enthält die Nährflüssigkeit nur Salpeter. Es tritt keine Schaumbildung ein, keine Zersetzung des Salpeters. Die Kulturen mit *B. nitrovorus* bleiben fast völlig klar, die anderen sind schwach getrübt. Die nach Verlauf von 3 Wochen vorgenommene Prüfung ergab, daß alle 4 Arten von Organismen lebensfähig waren und nach der Uebertragung in die Nährlösung 13 (siehe unten) den Salpeter schnell zersetzten.

6. Glukose und Pepton.

Die Nährlösung enthält Pepton, Glukose und Salpeter. *Bac. Hartlebi* hatte nach 4 Tagen den Salpeter unter Schaumbildung zersetzt, die anderen 3 Organismen erzeugten weder Schaum, noch führten sie eine Zersetzung des Salpeters herbei. Alle Kulturen waren schwach getrübt und erwiesen sich die Organismen nach Verlauf mehrerer Wochen lebensfähig.

7. Glukose und Fleischextrakt.

Es wurden die oben bezeichneten 3 Sorten von Fleischextrakt verwendet, ferner Glukose und Salpeter. *B. Hartlebi* bewirkt in den mit Fleischextrakt Liebig und Fleischextrakt Schülke und Meyer nach 2 Tagen eine vollständige Zerstörung des Salpeters, die Benutzung von Fleischextrakt Cibils nach 4 Tagen. Die anderen 3 Bakterienarten lassen den Salpeter unzersetzt, es werden nach Verlauf einiger Tage zwar einige unbedeutende Schaumblasen auf der Oberfläche der Flüssigkeiten beobachtet, indes ist auch nach Verlauf mehrerer Wochen die Salpeterreaktion eine sehr starke. Alle 4 Arten trübten die Nährflüssigkeiten stark und erwiesen sich nach mehreren Wochen in Nährlösung 13 übertragbar, als vollkommen lebensfähig.

8. Glukose, Fleischextrakt, Pepton.

Alle 3 Sorten von Fleischextrakt werden zu den Versuchen benutzt. Die Ergebnisse sind die gleichen, wie ich sie unter No. 7 angab, mit dem einzigen Unterschiede, daß *B. Hartlebi*, in Fleischextraktlösung Cibils kultiviert, den Salpeter schon am 2. Tage zerstört hatte.

Die 3 anderen Arten von Bakterien vermehren sich stark, ohne eine Zersetzung des Salpeters herbeizuführen. Die Flüssigkeiten werden stark getrübt. Die nach mehreren Wochen vorgenommene Prüfung auf die Lebensfähigkeit der Organismen gab ein positives Resultat. — Bei weiteren Versuchen ist, statt des Salpeters, Natriumnitrit gegeben. Bezüglich des *B. Hartlebi*, *Stutzeri*, *agilis* wurde das gleiche Ergebnis wie bei Gebrauch von Salpeter, nur mit dem Unterschiede, daß die Zerstörung des Nitrits in den mit *B. H.* geimpften Kulturen, einige Tage später eintrat, als bei Gebrauch von Salpeter. — *B. nitrovorus* entwickelte sich in der Nährflüssigkeit nicht.

9. Glukose, Fleischextrakt, Pepton, mit späterem Zusatz von Salpeter.

In der salpeterfreien Nährlösung ließ ich die Bakterien 4 Tage lang wachsen und setzte dann 0,3 Proz. Salpeter hinzu.

Versuchsreihe a. Das Fleischextrakt ist in Form von Liebig's Fleischextrakt gegeben. Die Zersetzung des Salpeters verlief in den mit *B. Hartlebi* geimpften Kulturen unter Schaumbildung innerhalb 3 Tagen, am 6. Tage waren die Kulturen des *Bac. agilis* zersetzt, am 8. Tage diejenigen des *B. Stutzeri*. Dagegen veranlaßte *B. nitrovorus* keine Zersetzung.

Versuchsreihe b. Fleischextrakt in Form desjenigen von Schülke und Meyer gegeben. Der Salpeter wird unter starker Schaumbildung in den Kulturen mit *B. Hartlebi*, *agilis* nach 3 Tagen vernichtet. *B. Stutzeri* wirkte erst nach 8 Tagen. *B. nitrovorus* blieb wirkungslos.

Versuchsreihe c. Fleischextrakt Cibils. Am 3. Tage bildete *B. Hartlebi* Schaum, Salpeter erst am 8. Tage. *B. nitrovorus* und *agilis* blieben wirkungslos.

10. Glukose und Kreatin.

Die Nährlösung ist, wie unter 4 angegeben, zusammengesetzt mit Zugabe von 10 g Glukose. Keine Schaumbildung, keine Zersetzung des Salpeters. Die Vermehrung der Organismen ist äußerst dürftig, indes waren dieselben nach Verlauf von 3 Wochen noch lebensfähig und zersetzten Salpeter, nachdem sie in die Lösung 13 gebracht waren.

11. Die Wirkung des Kaliumcitrat.

Die Nährlösung enthält in 1 Liter: 10 g Kaliumcitrat, 3 g KNO_3 und ist ferner (wie stets), 1 g K_2HPO_4 gegeben. Die Organismen vermehren sich sehr stark, eine Schaumbildung tritt bei den meisten Kulturen nicht ein, bei anderen ist sie unerheblich. Der Salpeter ist in den mit *B. Stutzeri* und *Hartlebi* geimpften Kulturen nach Verlauf von 8 Tagen vollständig verschwunden, in denen die mit *agilis* und *nitrovorus* geimpft sind, nach 6—8 Tagen.

Vermutlich wird der N. zum Teil in organische Verbindungen übergetreten sein. Dies geht aus der starken Vermehrung der Organismen und daraus hervor, daß die Schaumbildung fast unterblieb. Durch quantitative Bestimmungen des N. in den Nährlösungen sind ziffermäßige Nachweise über die Richtigkeit dieser Annahme später zu erbringen.

12. Kaliumcitrat und Pepton.

Die unter 11 erwähnte Nährlösung erhält einen Zusatz von Pepton.

In den mit *B. Stutzeri* und *Hartlebi* geimpften Kulturen ist, allerdings unter nur schwacher Schaumbildung, der Salpeter nach 3 Tagen verschwunden. Bei *B. nitrov.* und *agilis* nach 6—7 Tagen.

13. Kaliumcitrat, Pepton und Fleischextrakt.

Verwendet ist Fleischextrakt von Schülke und Meyer. Schaumbildung tritt ein: in den mit *B. Stutzeri agilis* und *Hartlebi* geimpften Kulturen nach 2mal 24 Stunden, in denen

des *B. nitrovorus* nach 3mal 24 Stunden. Nach 4mal 24 Stunden ist der Salpeter aus sämtlichen Kulturen verschwunden.

14. Kaliumcitrat und Fleischextrakt (ohne Pepton).

Die Resultate sind genau die gleichen wie sie unter 13 angegeben wurden.

15. Wirkung von Kaliumcitrat, Pepton, Fleischextrakt und Dinitrobenzol.

Die Nährlösung enthielt an Stelle von Salpeter Dinitrobenzol, und zwar auf 1 Liter berechnet 2 g. Im übrigen ist die Nährlösung, wie unter 13 angegeben, zusammengesetzt. Das Resultat war, wie zu erwarten, ein völlig negatives. Die Organismen können in dieser Flüssigkeit nicht wachsen. Ich halte es für unwahrscheinlich, daß die denitrifizierenden Bakterien irgendwelche organische Nitrogruppen zu reduzieren imstande sind.

Kurze Zusammenstellung der Ergebnisse.

A. Bezüglich der stickstoffhaltigen Nährsubstanzen.

Das von mir benutzte Pepton konnte den bei den Versuchen benutzten Bakterien die nötige Energie zur Zerstörung des Salpeters, unter Freiwerden von N. nicht liefern (Vers. 1). — Die verwendeten Fleischextrakte zeigten eine ungleiche Wirkung. Fleischextrakt Cibils war ebenso unwirksam wie Pepton (2c). — Fleischextrakt Liebig konnte unter den gewählten Versuchsbedingungen nur *B. Hartlebi* zur Vernichtung des Salpeters befähigen. In den Kulturen des *B. Hartlebi*, welche Fleischextrakt von Schülke und Meyer als Nährmaterial erhalten hatten, kam es zur Schaumbildung, aber nicht zur völligen Zerstörung des gegebenen Quantum von Salpeter (es sind 0,3 Proz. Salpeter gegeben). In den Lösungen der beiden zuletzt erwähnten Arten von Fleischextrakt brachte *B. Stutzeri*, *nitrovorus* und *agilis* es wohl zu einer ganz unbedeutenden Schaumbildung (welche Beobachtung nach den übereinstimmenden Erfahrungen aller Forscher mit dem Freiwerden von N. in Beziehung zu stehen scheint), indes kann in diesen Fällen die Menge des zersetzten Salpeters eine nur geringe gewesen sein, indem auch nach längerer Zeit die Reaktion der Flüssigkeiten auf Salpeter eine recht starke war (2a, b). — Der Versuch mit Kreatin (4) weist darauf hin, daß vermutlich nicht die sogenannten Fleischbasen den *B. Hartlebi* befähigten, die Zersetzung des Salpeters zu vollziehen, sondern es werden andere Bestandteile des Fleischextraktes gewesen sein.

B. Die Wirkung der Glukose neben stickstoffhaltigen Nährstoffen.

Die von mir benutzten 4 Arten denitrifizierender Bakterien blieben bei Gegenwart von Glukose und Salpeter lebensfähig, sie vermehrten sich, aber trotzdem übten sie keine zerstörende Wirkung auf den Salpeter aus (Vers. 5).

Die Frage von Jensen: „Ist denn die Denitrifikation nicht eben ein mit der Vermehrung der Bakterien eng verknüpfter Vor-

gang?⁴, muß ich mit nein beantworten. Es kann unter gewissen Umständen eine wesentliche Vermehrung der Organismen stattfinden, ohne daß der gleichzeitig vorhandene Salpeter zersetzt wird.

Diese Schlußfolgerung geht auch bezüglich des *B. nitrovorus*, *a. agilis* und *Stutzeri* aus den Versuchen 6, 7, 8 hervor. Es fand eine starke Vermehrung der Organismen statt, ohne daß gleichzeitig der vorhandene Salpeter zerstört wurde.

B. Hartlebi zeigte wiederholt ein anderes Verhalten, wie es früher von mir beobachtet ist. Die Ursache weiß ich nicht anzugeben, es war dieser Organismus damals auf salpeterfreien Nährmedien lange Zeit fortgezüchtet und lasse ich dahin gestellt, ob dies von Einfluß auf dessen physiologisches Verhalten gewesen ist.

Merkwürdig ist es, weshalb die 3 anderen, vorhin erwähnten Arten denitrifizierender Bakterien die nötige Energie zur Vernichtung des Salpeters nicht aus der Glukose zu entnehmen vermögen, während milchsäures Kalium vortrefflich geeignet war.

Ist der Unterschied durch die chemische Konstitution der betreffenden Verbindungen bedingt, oder spielt die Ionisierung der Moleküle eine wichtige Rolle? Da die Zersetzung des Salpeters im allgemeinen schneller verläuft, wenn die Organismen ionisierte Verbindungen vorfinden, glaube ich der Ionisierung, bezw. der Fähigkeit der Organismen nicht ionisierte Verbindungen in ionisierte umzuwandeln, eine gewisse Beachtung schenken zu sollen, indes sprechen verschiedene Thatsachen dafür, daß dies mindestens nicht der alleinige Grund des Unterschiedes in der Wirkung von Zucker und organischen Säuren sein kann.

Ich lasse ferner dahin gestellt, ob die Bevorzugung dieser oder jener organischen Verbindung durch das Sauerstoffbedürfnis der betreffenden Organismen beeinflußt wird und ob der Salpeter unzerstört bleibt, wenn das betreffende Bakterium durch intramolekulare Atmung den Sauerstoff aus einer organischen Verbindung entnehmen kann. Die richtige Erklärung ist dadurch wesentlich erschwert, daß die einzelnen Arten der denitrifizierenden Bakterien in der Fähigkeit, den Salpeter zu zerstören, sich ungleich verhalten.

Jedenfalls bedürfen die physiologischen Vorgänge, die bei der Denitrifikation sich abspielen, einer weiteren Aufklärung.

Gewisse Unterschiede traten hervor, wenn der Salpeter erst nachträglich zu der Nährflüssigkeit hinzugegeben wurde. Der Versuch 9 ergibt (trotz der Abweichungen, welche einzelne Arten der Bakterien bei der Verwendung der verschiedenen Sorten von Fleischextrakt zeigten), daß im allgemeinen den Bakterien die Zerstörung des Salpeters nicht so große Schwierigkeiten macht, wenn man den Salpeter nachträglich giebt. Die Zersetzung und die Verwendung der Nährstoffe muß demnach eine andere sein, je nachdem die Bakterien gleichzeitig Salpeter vorfinden oder nicht.

In viel höherem Grade wurde eine für die Denitrifikation günstigste Umwandlung der benutzten Nährstoffe (Glukose mit Pepton

und Fleischextrakt) bewirkt, wenn man zunächst andere Bakterienarten in der Nährlösung kultivierte, diese später sterilisierte und mit denitrifizierenden Bakterien impfte. *B. subtilis*, *prodigiosus*, *lactis aërogenes*, *mycoides* beeinflussten die Nährlösung in der Weise, daß solche nun von allen geprüften denitrifizierenden Bakterien zur Vernichtung des Salpeters gebraucht werden konnte, während *B. megatherium* die Beschaffenheit der Nährlösung in dieser Hinsicht nicht veränderte.

Nachdruck verboten.

Entgegnung auf Alfred Fischer's „Antwort“ in betreff der Existenz von durch Bakterien verursachten Pflanzenkrankheiten.

Zweiter Teil.

Von Dr. Erwin F. Smith,

Direktor der pathologischen Laboratorien der Division of Vegetable Physiology and Pathology, U. S. Department of Agriculture, Washington, D.C., U.S.A.

Mit 11 Tafeln.

In den folgenden Zeilen werde ich diejenigen kritischen Bemerkungen in Fischer's „Antwort“ berücksichtigen, welche in meiner vorigen Mitteilung nur kurz berührt wurden (dieses Centralblatt. Bd. V. p. 810), nämlich diejenigen Punkte, welche sich auf meine eigenen Untersuchungen beziehen.

Fischer leitete seine Kritik mit einem Citat von A. B. Frank ein, was mich veranlaßt, seinem Beispiel zu folgen und ein späteres Citat von demselben Autor anzuführen, welches sich auf die Existenz einer Bakterienkrankheit der Kartoffeln bezieht:

„Der volle Beweis dafür, daß der Spaltpilz der Erreger der in Rede stehenden Krankheitszustände ist, wird gewonnen, wenn man statt fauler Gewebestücke den reingezüchteten *Micrococcus* zu Impfungen benutzt. Ich verwendete Gelatinekulturen des aus schwarzbeinigen Stengeln abgeimpften *Micrococcus* zu Impfungen in gesunde Kartoffelstengel. Zu dem Zwecke wurden etwa fingerlange Stücke völlig gesunder, reiner Kartoffelstengel benutzt; in einer ganz mäßig feuchten Luft unter Glocken bleiben solche Stengelstücke jedenfalls tagelang am Leben und lassen daher den Erfolg von Impfungen gut verfolgen. Letztere machte ich meist in Form von Nadelstichen. Bloße Stiche ohne Impfung brachten gar keine Veränderung hervor; dagegen begann an alten Stichen, mit denen Bakterien aus der erwähnten Gelatinekultur eingimpft wurden, nach einigen Tagen eine deutliche Gewebeerkrankung, die sich in elliptischem Umriß um die Stichstelle, entsprechend der Längsrichtung des Stengels, ausbreitete, indem daselbst das Gewebe eine wie gekocht aussehende, wässrig-weiche Beschaffenheit annahm und wobei wiederum die Verbreitung der Kokken von

Zelle zu Zelle und ihre massenhafte Vermehrung innerhalb derselben sich nachweisen ließ¹⁾.“

Diese Bemerkungen zeigen, daß Frank seine frühere Ansicht geändert hat, und zwar geschah dies im Jahre 1897, also noch 2 Jahre, bevor Fischer Frank's Ansichten als Citat benutzte. Frank sagt wörtlich über seine geänderte Stellungnahme im Jahre 1897:

„Ich selbst habe bis in die neuere Zeit an diesem Zweifel festgehalten, muß ihn aber nach den eigenen Untersuchungen, die ich jüngst über die Frage angestellt habe, aufgeben²⁾.“

Diese neuere Ansicht Frank's hätte Fischer bekannt sein sollen. Frank sagt auch in einer anderen Mitteilung:

„Bakteriose [No.] 1499, Berlin. Auf den Riesefeldern wurde am Kohl dieselbe Bakterienkrankheit, die in Amerika sehr schadet, in mäßigem Grade und ohne Schaden anzurichten, gefunden³⁾.“

Ich will hier noch anfügen, daß das Vorwort zum zweiten Band von Frank's Krankheiten der Pflanzen, aus welchem Fischer's Citat stammt, im Juli 1895 geschrieben wurde (vermutlich nach Abschluß des Bandes) und obgleich das Buch erst im Jahre 1896 gedruckt wurde, war nicht zu erwarten, daß die gesamte Litteratur von 1895 und 1896 Berücksichtigung finden würde, weshalb seine Bemerkungen zu jener Zeit sich nicht auf meine eigenen Abhandlungen beziehen und von Fischer gerechterweise in der obigen Weise gar nicht hätte benützt werden sollen.

Da nun Frank sich von seinen früheren Ansichten bekehrt hat und seine Gründe hierfür auseinandersetzte, soweit sie wenigstens eine bakterielle Krankheit betreffen, wurde sofort klar, daß diese Gründe mit noch viel größerem Gewicht auf die „Pear Blight“, „Wilt of cucurbits“, „Black-rot of potatoes“, „Brown-rot of the cabbage“ und auf verschiedene andere bakterielle Krankheiten angewendet werden können. Diese Folgerung ist um so berechtigter, als bei diesen eben genannten Krankheiten alle von Koch vorgeschriebenen Maßregeln zu wiederholten Malen und unter natürlichen Bedingungen berücksichtigt wurden.

In der vorliegenden Abhandlung, welche meine Entgegnung abschließt, werde ich die folgenden Punkte erörtern:

- 1) Welche Beweise werden von Pathologen verlangt und als hinreichend für die Feststellung der pathogenen Natur eines Organismus betrachtet?
- 2) In welchem Maße haben sich meine Untersuchungen an diese Bestimmungen gehalten?
- 3) Welchen Wert haben die speziellen Einwürfe Fischer's?
- 4) In welchem Maße stimmen die Photomikrographien, welche

1) Die Bakterienkrankheiten der Kartoffeln. (Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. V. 1899. No. 4. p. 137.)

2) Frank, Kampfbuch gegen die Schädlinge unserer Feldfrüchte. Berlin 1897. p. 201.

3) Jahresbericht des Sonderausschusses für Pflanzenschutz 1898. Berlin 1899. p. 105.

diese Abhandlung begleiten, mit den Aufstellungen überein, welche in meinen Publikationen erschienen sind?

Was gilt als ein befriedigender Beweis in der Pathologie? In seinem Streit mit Pasteur im Jahre 1882 setzte Koch sehr klar auseinander, was er für nötig erachtete, um zu beweisen, daß eine gewisse Krankheit bei Tieren auf einen gewissen Mikroben zurückzuführen ist. Diese Vorschriften sind so klar und überzeugend, lassen sich so vollständig auch auf Pflanzenkrankheiten anwenden und schließen sich so enge an meine eigene Ueberzeugung und meine Methoden an, daß ich sie ausführlich und um so lieber citiere, als manche Pflanzenpathologen noch keinen klaren Begriff davon zu haben scheinen, was einen überzeugenden Beweis ausmacht, und einen solchen in ihren Arbeiten auch nicht geliefert haben.

Koch sagt: „Es ist noch nicht bewiesen, daß sämtliche Infektionskrankheiten durch parasitische Mikroorganismen bedingt werden, und es muß deswegen in jedem einzelnen Falle der Nachweis des parasitischen Charakters der Krankheit geliefert werden. Den ersten Schritt zu diesem Nachweis bildet die sorgfältige Untersuchung der von der Krankheit veränderten Körperteile, um das Vorhandensein der Parasiten, ihre Verteilung in den erkrankten Organen und ihre Beziehungen zu den Geweben des Körpers festzustellen. ... Erst nachdem man in dieser Weise sich eine gründliche Orientierung darüber verschafft hat, ob Mikroorganismen in den erkrankten Teilen vorhanden sind, an welchen Stellen sie in voller Reinheit, ob beispielsweise in Lunge, Milz, Herzblut u. s. w., anzutreffen sind, kann versucht werden, den Nachweis dafür zu erlangen, daß diese Mikroorganismen pathogener Natur sind und daß sie speziell die Ursache für die in Frage stehende Krankheit abgeben. Sie sind zu diesem Zwecke in Reinkulturen zu züchten, und wenn sie hierdurch von allen ursprünglichen ihnen noch anhaftenden Bestandteilen des erkrankten Körpers befreit sind, wenn möglich auf dieselbe Tierspecies, bei welcher die Krankheit beobachtet wurde, oder doch auf solche Tiere zurückzupflanzen, bei welchem die fragliche Krankheit erfahrungsgemäß unter unverkennbaren Symptomen vorkommt. Um dies an einem Beispiel zu erläutern, erinnere ich an die Tuberkulose. Zuerst wurde durch mikroskopische Untersuchung festgestellt, daß in den erkrankten Organen wohlcharakterisierte Bacillen vorkommen; dann wurden diese Bacillen in Reinkulturen isoliert, indem man von solchen Stellen ausging, wo sie nicht mit anderen Bakterien vermischt und durch diese verunreinigt vorkommen; zuletzt wurde durch die Rückimpfung solcher Reinkulturen auf möglichst zahlreiche Tiere der verschiedensten Arten, deren Empfänglichkeit für diese Krankheit bekannt ist, die Tuberkulose von neuem erzeugt. Ein zweites sehr lehrreiches Beispiel bildet das Erysipel des Menschen. Man wußte schon längere Zeit, daß bei dieser Krankheit in den Lymphgefäßen der Haut sich konstant Mikrokokken finden. Damit war allerdings noch nicht erwiesen, daß letztere die Ursache des Erysipels sind. Nachdem es aber Fehleisen vor kurzem gelungen ist, aus

excidierten Hautstücken von Erysipelkranken, unter allen Kautelen gegen eine Verunreinigung durch andere etwa zufällig auf der Hautoberfläche abgelagerte Bakterien, jene Mikrokokken in Reinkulturen zu züchten und durch Verimpfung derselben am Menschen selbst ein typisches Erysipel hervorzurufen, kann kein Zweifel mehr bestehen, daß die Mikrokokken in der That die Ursache des Erysipels sind und letztere als eine parasitische Krankheit anzusehen ist¹⁾.“

Dieses Urteil Koch's hat sich bisher stets bewährt und es wird von den Tierpathologen nicht mehr daran gezweifelt, daß, wenn ein Pathologe diese drei Vorschriften befolgt, er seinen Beweis geliefert hat. Nur wenn unübersteigliche Schwierigkeiten sich bei gewissen Krankheiten ergeben, wie bei Tetanus, Diphtherie, Cholera und Typhus, wird auch ein weniger vollständiger Beweis oder ein mehr indirekter Beweis zugelassen, wie die folgenden Citate zeigen. Zuerst citiere ich von Fraenkel:

„Ich brauche nicht zu wiederholen, daß wir ein Bakterium nur dann mit voller Sicherheit als besonderen Erreger einer krankhaften Erscheinung gelten lassen dürfen, wenn es sich bei derselben im Leben oder nach dem Tode regelmäßig nachweisen läßt, wenn es ferner außerhalb des Organismus gezüchtet werden kann und wenn es endlich von den künstlichen Kulturen aus übertragen aufs Neue denselben pathologischen Vorgang hervorzurufen vermag. Nun sind wir freilich nicht vielen Bakterien gegenüber in der glücklichen Lage, allen diesen Bedingungen genügen zu können. Bei den einen fehlt dieses, bei den anderen jenes Stück in der wohlgeschlossenen Kette der eben mitgeteilten Beweisführung; aber ich sagte Ihnen bereits, daß wir heute, gestützt auf sonstige Erfahrungen und Kenntnisse, in manchen Fällen auch dann schon von einer Gewißheit reden können, wenn es sich streng genommen nur um einen hohen Grad der Wahrscheinlichkeit handelt²⁾.“

In der letzten Ausgabe von Flügge's „Mikroorganismen“ bespricht Gotschlich denselben Fall, wie folgt:

„Bei Milzbrand, bei verschiedenen Formen von Septikämie, bei Rotz, bei Tuberkulose u. s. w. konnte Koch Reinkulturen in beliebig langer Reihe fortführen; übertrug er eine Spur der letzten Züchtung auf ein Versuchstier, so trat nach dem typischen Inkubationsstadium die entsprechende Krankheit mit allen ihren charakteristischen Symptomen auf; nach bestimmter Zeit erfolgte der Tod; das Sektionsergebnis war stets das gleiche; im Blut und in den Geweben fanden sich in enormer Zahl Organismen von der Gestalt und dem Verhalten der geimpften, und Spuren des organismenhaltigen Blutes erzeugten, auf ein anderes Versuchstier überimpft, in diesem dieselbe tödliche Affektion.“

„Für die genannten Krankheiten ist somit die kausale Be-

1) Ueber die Milzbrandimpfung. Eine Entgegnung auf den von Pasteur in Genf gehaltenen Vortrag von Dr. R. Koch, Geh. Regierungsrat. Kassel und Berlin (Verlag von Theodor Fischer) 1882. p. 4—5. Auch in Französisch gedruckt. Berlin (Th. Fischer) 1883. p. 4—5.

2) Fraenkel, Grundriß der Bakterienkunde. 3. Aufl. Berlin 1890. p. 271.

ziehung der Mikroorganismen vollkommen sicher erwiesen, und es liegt nahe, von jenen aus auf die mannigfachen anderen Infektionskrankheiten zu schließen, die sich den erkannten Krankheiten ähnlich verhalten. Dennoch wird es zweckmäßig und der Entwicklung der Lehre von den Mikroparasiten nur förderlich sein, wenn man hierbei mit größter Vorsicht zu Werke geht, Verallgemeinerungen vermeidet und nur dann eine Krankheit als parasitäre proklamiert, wenn es gelingt, morphologisch gut charakterisierte Mikroorganismen aufzufinden, diese ferner in solcher Menge und Verteilung nachzuweisen, daß alle Krankheitserscheinungen dadurch Erklärung finden, dieselben endlich auf andere höhere Organismen zu übertragen oder aber womöglich auf künstlichem Nährsubstrat durch verschiedene Generationen hindurch zu züchten und dabei so wirksam zu erhalten, daß die geringste Menge, Versuchstieren eingeimpft, wiederum das charakteristische Krankheitsbild hervorruft ¹⁾.“

Ein anderer namhafter Patholog äußert sich, wie folgt: „Hierzu hat Koch drei Nachweise gefördert: 1) sollen diese Mikroben sich bei der Krankheit in einer Zahl und Anordnung finden, daß ihre Anwesenheit alle Symptome erklären kann, 2) sollen dieselben rein kultiviert werden und 3) sollen die Reinkulturen, auf Versuchstiere übertragen, dieselbe Krankheit hervorrufen.“

„Dieser Beweis konnte nun für viele solcher Bakterien geführt werden, z. B. für die Erreger von septikämischen Krankheiten, wie Milzbrand, für die Tuberkulose. Dagegen versagten die Beweise 2 und 3 schon bei Rückfallfieber, der Beweis 1 konnte für Tetanus und Diphtherie, der Beweis 1 und 3 für Cholera nicht gebracht werden.“

„Man mußte also weiter gehen. Das erste, was erkannt, aber in seinem ausschlaggebenden Werte nicht beachtet wurde, war die Krankheitsanlage. Nur wenn das Tier für die betreffende Seuche disponiert war, konnte man ihm künstlich die Seuche beibringen. War keine Disposition vorhanden, so erkrankte das Tier nicht oder in anderer Weise. Dann wurde beobachtet, daß einzelne Bakterien nicht mechanisch durch ihre Anwesenheit und Vermehrung in den Organen zur Wirkung gelangten, sondern chemisch durch die Bildung von Giften. Es ist auffallend, daß Koch, der schon 1878 die erste derartige Beobachtung machte, im Jahre 1880 noch seine drei Forderungen so schroff aufstellen konnte. Dann ergab sich, daß man nicht alle bei Seuchen mikroskopisch wahrnehmbaren Bakterien kultivieren konnte, so daß dann weder Reinkulturen noch Uebertragungen derselben auf Tiere möglich waren. Weiter stellte sich heraus, daß die Formen nicht stets deutlich, typisch, spezifisch waren, so daß die einfachen Formmerkmale der früheren Zeit oft versagten und weitere differential-diagnostische Merkmale gesucht werden mußten. Manche Bakterien sind für gewöhnlich unschädlich, können aber unter besonderen Umständen seuchenartige Erkrankungen veranlassen ²⁾.“

1) Flügge, Die Mikroorganismen. 3. Aufl. Erster Teil. Leipzig 1896. p. 29—30.

2) Hueppe, Naturwissenschaftliche Einführung in die Bakteriologie. Wiesbaden 1896. p. 87—88.

Bei bakteriellen Pflanzenkrankheiten stößt man auf keine unüberwindlichen Schwierigkeiten, um die von Koch vorgeschriebenen Beweise zu erbringen, wenigstens ist mir noch keine vorgekommen. Bei meinen Untersuchungen habe ich mich stets an die folgenden Regeln gehalten und habe niemals ein Bakterium für pathogen erklärt, bis ich durch wiederholte Versuche eine volle und zufriedenstellende Antwort auf folgende Forderungen erhielt:

1) Der Organismus muß stets in den erkrankten Geweben nachweisbar sein, d. h. in jeder erkrankten Pflanze, wenn möglich von verschiedenen Lokalitäten und von verschiedenen Jahrgängen stammend. Das frische Material mußte mit und ohne Tinktionsmethoden und mit den besten bakteriologischen Mitteln, wie Mikrotomen, Mikroskopen etc., untersucht werden.

2) Unter den notwendigen bakteriologischen Kautelen mußte der Organismus aus dem Innern der erkrankten Pflanzen isoliert werden (am besten vermittelt Petri-Schale Plattenkulturen in Agar oder Gelatine) und dann in verschiedenen festen und flüssigen Medien gezüchtet werden, um die Struktur und die besonderen Eigenschaften, z. B. auf sein Verhalten zu Wärme, seine Pigmentproduktion, Gärvermögen u. s. w., festzustellen, so daß die Morphologie und Physiologie des Organismus stets mit voller Sicherheit, auch ohne seine pathogenen Eigenschaften zu berücksichtigen, erkannt werden kann. Bei meinen eigenen Versuchen waren mindestens 6 Monate, ja manchmal einige Jahre nötig, um dieses alles festzustellen, und ich war nicht eher befriedigt, als bis ich die Organismen auch ohne pathogene Versuche wieder erkennen konnte. Den Schluß der Identifizierung bildete dann das Infektionsexperiment. Bei meinen Isolierungsversuchen arbeite ich in einem reingehaltenen abgeschlossenen Raum in ruhiger Luft. Die gereinigte Oberfläche der Pflanze, aus deren Innern ich den Organismus isolieren will, wird zuerst mit einem rotglühenden Spatel behandelt und durch diese hierdurch versengte Oberfläche wird eine kleine Höhlung in das tiefer liegende Gewebe mit einer rotglühenden Stahlnadel gebohrt. Dann wird etwas von dem flüssigen Innern mittels einer sterilen Platinnadel oder -Oese entnommen und sofort in eine Röhre mit sterilem Wasser oder Bouillon übertragen, und hiervon wird sofort Agar oder Gelatine behufs Plattenkulturen infiziert.

3) Der Organismus wird nun von einer passenden Subkultur (nach mehrfachen Uebertragungen) auf viele Pflanzen übertragen (geimpft), wobei viele Kontrollpflanzen unter sonst gleichen Bedingungen nicht infiziert oder lediglich mit einer sterilen Nadel punktiert werden. Nur die infizierten Pflanzen sollen erkranken, während die Kontrollpflanzen gesund bleiben müssen. Die Symptome und die histologischen Veränderungen müssen vollständig übereinstimmen mit den durch natürliche Infektion erkrankten Pflanzen und die in den angegriffenen Geweben aufgefundenen Bakterien müssen sich morphologisch identisch erweisen mit dem Bakterium der Infektion und müssen ferner in großer Menge vorhanden sein oder wenigstens hinreichend, um die Krankheit zu

erklären (bei allen den von mir studierten Fällen waren sie stets sehr reichlich vorhanden). Ferner mußte sich bei der Untersuchung die Abwesenheit anderer Organismen ergeben, z. B. von Fungi, Insekten, Milben, Nematoden etc. Viele dieser Infektionsexperimente mußten zu verschiedenen Zeiten (womöglich in verschiedenen Jahren) und von verschiedenen Reinkulturen des Organismus ausgeführt werden, und überall mußte das gleiche Resultat eintreten, nämlich die Erkrankung von allen oder wenigstens des größeren Teiles der infizierten Pflanzen mit den charakteristischen Symptomen und Veränderungen, wobei selbstverständlich stets die mikroskopische Untersuchung Bakterien in den erkrankten Geweben ergeben mußte. Zugleich mußten die Kontrollpflanzen bei guter Gesundheit fortleben¹⁾.

4) Unter den notwendigen Kautelen werden nun Kulturen aus dem Innern der infizierten und erkrankten Pflanzen, die unter 3 erwähnt, angelegt, und die Organismen, welche nun in größerer Zahl von den Infektionsstellen entfernten Punkten isoliert wurden, mußten in jeder Beziehung übereinstimmen mit dem Mikroben, welcher zum Infizieren diente, und mußte ferner bei Wiedereinimpfung gesunder Pflanzen die charakteristische Krankheit erzeugen.

Trotzdem ich diese Vorschriften befolgte, hat Fischer nicht nur meine Arbeiten in seinen „Vorlesungen“ ignoriert, sondern auch in seiner „Antwort“ sich folgende Aeüßerungen erlaubt:

„Solange Smith sich nicht dazu bequemt, seine Versuche einwandfrei nach allen Erfordernissen der experimentellen Pathologie auszuführen und darzustellen, hat er auch keinen Anspruch darauf, daß seine Arbeiten als wohlverbürgte und sichere Er rungenschaft der Wissenschaft eingeschätzt werden.“

Was meint Fischer mit „allen Erfordernissen der experimentellen Pathologie?“ Ich habe meine Versuche unter gewissenhafter Einhaltung dieser Vorschriften wiederholt ausgeführt, bevor ich mir eine Zeile darüber zu publizieren erlaubte. Das geht auch genügend aus meinen Mitteilungen selbst hervor. Wohl mögen einige Schlüsse untergeordneter Natur vielleicht nicht genug gestützt gewesen sein, aber die Hauptschlüsse werden unverändert fortbestehen. Ich habe einen Ueberfluß an Material an der Hand, um meine Angaben zu bestätigen, wie alkoholische Proben der erkrankten Gewebe, Schnitte, welche die pathogenen Bakterien enthalten, gefärbte Bakterien, Photographien etc. Es würde mir viel Vergnügen machen, mit diesem alkoholischen Material Bakteriologen oder Botanikern zu dienen, welche sich dafür interessieren.

1) Es kommt zwar einerseits vor, daß eine infizierte Pflanze die Krankheit nicht entwickelt, andererseits daß trotz aller Vorsicht im Gebrauch des Infektionsmaterials gelegentlich eine Kontrollpflanze erkrankt, wie das ja auch im Tierreich aus ähnlichen Gründen zu beobachten ist. Aber es darf keine Schwierigkeit machen, richtige Infektionen zu erzielen. Es ist Sorge zu tragen, größere Wunden und große Quantitäten von Bakterien zu vermeiden. Die Infektion kann geschehen mittels subkutaner Spritze oder durch Nadelpunktur, auf welche letzte Weise ich ausgezeichnete Resultate erhielt.

Jeder kann sich von dem gesandten Material die Schnitte selbst herstellen und sich dabei überzeugen, daß die Außenfläche gesund, während das Innere mit Bakterien erfüllt und zugleich frei ist von Fadenpilzen und tierischen Parasiten.

Ich habe auch im Král'schen Laboratorium in Prag Reinkulturen einiger dieser Organismen deponiert, so daß sie jeder erhalten kann, welcher meine Versuche nachprüfen will.

Nun zu einigen speziellen Bemerkungen Fischer's. Einer der ersten Schritte, wenn eine neue Krankheit vorliegt, ist eine klare Auffassung ihres Symptomenkomplexes, so daß keine Verwechselung mit anderen Krankheiten möglich wird. Die Abbildungen, welche meine früheren Abhandlungen begleiten, wurden zu einem spezifischen Zweck ausgewählt, nämlich dazu, die Symptome genau erkennen zu lassen, und ich halte sie auch jetzt noch für diesen Zweck sehr instruktiv. So kann z. B. ein Pflanzenpatholog vermittelst meiner Abbildungen der braunen resp. schwarzen Trockenfäule des Kohles in irgend ein deutsches Krautfeld gehen, wo die Krankheit vorkommt, und dieselbe identifizieren. Nachdem dies geschehen ist, kann er den Organismus selbst nach meiner Beschreibung ohne weitere Abbildung identifizieren. Weitere Mitteilungen über dieselben Krankheiten waren beabsichtigt, alles konnte nicht in einer einzigen Mitteilung zusammengefaßt werden.

Vor allem erhebt sich immer die Frage behufs irgend einer Arbeit, ob der Autor ein Anfänger ist, welcher leicht Mißgriffe machen kann, oder ob er ein Mann von langjähriger Erfahrung ist, welcher Vorsicht und Zuverlässigkeit in seinen Mitteilungen bewahrt. Für einen kompetenten Forscher ist die Abbildung von Bakterien in den Geweben noch keineswegs ein so unwiderleglicher Beweis von ihren pathogenen Eigenschaften, wie Fischer meint. Abbildungen gleichen der Milch für Kinder. Wenn sie gut sind, tragen sie zur leichteren Assimilierbarkeit des Textes bei und üben auf viele Geister einen herrschenden Einfluß aus, welcher nicht zu verachten ist, besonders wenn die Mitteilung in einer fremden Sprache erfolgt; aber es ist absurd, die vollen und detaillierten Beschreibungen eines Pathologen in Zweifel zu ziehen, bloß weil er seinen Text nicht mit allen möglichen Zeichnungen begleitet hat.

Jedoch, um das Interesse an der Sache zu erhöhen, sollen die Leser dieses Centralblattes einige von den Abbildungen haben, welche Fischer verlangt und von deren einer er sagt „die doch großes Interesse erregen muß“. Ich gebe mich der Hoffnung hin, daß diese Abbildungen, welche nicht etwa Zeichnungen sind, sondern wahrheitsgetreue Photographieen, wohl dazu dienen werden, die allgemeine Glaubwürdigkeit meiner früheren Behauptungen zu bestätigen, falls irgend ein Zweifel bei den Lesern durch Fischer's Bemerkungen erweckt worden sein sollte. Vor Besprechung der Abbildungen wollen wir jedoch untersuchen, welches Gewicht einigen anderen Bemerkungen Fischer's beizulegen ist, da der Leser, welcher meine Originalabhandlungen nicht kennt,

leicht durch Fischer's Citate irreführt werden könnte, wie folgendes Beispiel zeigt:

„So will ich doch noch den famosen *Bacillus tracheiphilus* besprechen, weil Migula ihn durch folgendes Urteil sanktioniert: ‚Es kann somit kein Zweifel darüber bestehen, daß dieser Organismus der Erreger des Verwelkens von Cucurbitaceen ist.‘ Das gefällt zwar E. Smith, aber mir nicht.“

Der Grund, welcher Migula bei seinem Urteil leitete, wird von Fischer nicht erwähnt. Der ganze Paragraph lautet, wie folgt:

„Smith fand als Erreger einer bei Cucurbitaceen mit raschem Verwelken einhergehenden Krankheit einen *Bacillus*, *Bacillus tracheiphilus*, welchen er in Reinkultur erhielt und wiederholt erfolgreich auf gesunde Pflanzen überimpfte. Es kann somit etc.“

Fischer sagt noch:

„Die Kultur eines beliebigen *Bacillus* genügt nicht. Es muß anschaulich gezeigt werden, daß in der Reinkultur und im kranken Teile wirklich derselbe Organismus sich findet. Das muß der Leser E. Smith glauben, auch wenn in den Gefäßen des Kohles der *Bacillus* fast wie ein *Micrococcus* aussieht, in den Reinkulturen aber 2—3mal so lang als breit wird.“

Wenn ein Organismus kürzer oder schlanker in dem Wirt ist, als wenn künstlich gezüchtet, oder wenn er zu einzelnen oder in Paaren im Wirt vorkommt, aber bei Züchtung in langen Ketten oder Fäden wächst (welches gelegentlich beim *Ps. campestris* und zugehörigen Species der Fall ist), wenn er im Wirt keine Sporen hervorbringt, wohl aber auf künstlichem Nährboden, wenn er unverzweigt und typisch im Wirt vorkommt, aber verzweigte oder Involutionsformen im Nährmedium zeigt oder umgekehrt, wie würde dann Fischer entscheiden, lediglich von der Abbildung ausgehend, ob die Organismen aus dem Wirt und den Reinkulturen identisch oder nicht identisch sind? Ich ersuche die Leser, die Beweisstücke Fischer's mit denen von Koch, Fraenkel, Flügge und Hueppe zu vergleichen. Wie ich schon betont habe, ist der beste Identitätsbeweis nur dadurch zu erreichen, daß man, von den Reinkulturen ausgehend, die bestimmte Krankheit wieder erzeugen kann. Wenn die Krankheit erzeugt wird mittels tadelsfreier Reinkulturen, wenn dieser Organismus sich in den Geweben wieder vermehrt, wenn er daraus wieder isoliert wird und auf denselben Medien mit der Originalkultur wieder übereinstimmt, wenn er wieder bei Impfungen die Krankheit erzeugt, und dieses immer wieder mit Erfolg wiederholt werden kann, dann ist die Kette von Beweisen so vollständig, daß wohl keiner mehr daran zweifeln kann, daß der in Frage stehende Organismus auch wirklich die Krankheit erzeugt hat. Wenn Fischer etwa meinen sollte, daß keine Bakterienart soweit in Form variiert, als meiner Beschreibung entspricht, dann möchte ich weiter nichts thun, als die Aufmerksamkeit des Lesers darauf zu richten und das Uebrige

auf sich beruhen zu lassen. Ich will bloß noch anführen, daß ich keineswegs konstatierte, daß die Bakterien immer in der Form von kurzen Stäbchen in den Gefäßen zu finden sind, sondern nur, wenn sie recht zahlreich vorkommen. Ich habe noch ein weiteres Faktum konstatiert, welches Fischer unterlassen hat, zu erwähnen, aber welches in Betracht gezogen werden muß, um den Leser nicht irre zu führen, nämlich daß in alten Kulturen die Stäbchen kürzer werden und dann den in der Pflanze angehäuften gleichen. Ich sagte wörtlich: In old cultures the rods became shorter, the same as when crowded in the plant.“

Fischer sagt weiter:

„Auch davon, daß der Krankheitserreger durch die Wasserporen einwandert, ist nur so im allgemeinen die Rede, es wird nicht einmal gesagt, daß mikroskopische Schnitte nach der Infektion und im weiteren Verlaufe der Krankheit angefertigt wurden, um die Bakterien auf ihrem Vordringen in die Tracheiden und Gefäße zu verfolgen. Der ganze Beweis reduziert sich auf Folgendes.“ Hier folgt ein kurzer Bericht über meine Infektionen durch die Wasserporen.

Wie konnte ich wissen, daß Bakterien in gewissen Geweben vorhanden waren und wie konnte ich die Entwicklung der Krankheit verfolgen und die pathologischen Veränderungen studieren ohne stetigen Gebrauches des Mikroskopes? Wenn man in Betracht zieht, daß die Kohlpflanzen ziemlich langsam wuchsen, so daß vielleicht viele Wasserporen mangelhaft oder gar nicht funktionierten, und vielleicht auch anstatt mit Wasser mit Immersion nicht leicht herausdringenden Luftblasen angefüllt waren, waren die Resultate meiner Immersionsversuche ganz befriedigend, denn 17 von 24 Pflanzen zeigten eine Schwärzung in der Region der Wasserporen und bei 14 wurde nach und nach das ganze Gefäßsystem des Blattes infiziert. Ich citire aus meiner ersten Abhandlung: „Some of the immersed leaves showed no infections; others as many as 15 to 25 separate ones corresponding to as many [separate groups of] water pores and including nearly all of the submerged ones.“ „Infections through the ordinary stomata were not obtained.“ „These marginal infections whether accidental or experimentally produced gradually involved the whole leaf with the characteristic yellowing of the parenchyma and browning of the veins. On removing such leaves after the blades were badly affected, the bundles in the base of the petiole were seen to be browned, their vessels were gorged with an organism morphologically like the one used and finally cultures made from the interior of petioles, yielded great numbers of the yellow germ and nothing else.“

Was wird mehr verlangt von einem ätiologischen Beweis? Das erste Symptom war eine Bräunung in den Wasserporen, genau wie ich sie später in unzähligen Pflanzen auf den Feldern beobachtete, wo zum mindesten $\frac{9}{10}$ der Infektionen auf diese Weise stattfinden. Es war keine oberflächliche Erkrankung

sichtbar; die Epidermis auf beiden Seiten des Blattes war trocken und gesund. Es war keine Infektion durch die gewöhnlichen Stomaten oder durch Wunden sichtbar. Auch war im Parenchym keine Fäulniserscheinung zu beobachten, es wurde aber allmählich gelb, was mit der Schwärzung der Gefäße (einem sehr konstanten Symptom) zunahm. Von den Wasserporen aus zum Gefäßbündelsystem und von hier aus schreitet nun gegen die Mitte und basalen Ende der Spreite die Bräunung resp. Schwärzung fort. Schließlich wurden die Gefäßbündel der Blattstiele gebräunt, welche dann bei mikroskopischer Untersuchung und auch durch Kulturmethoden sich von den spezifischen Bakterien in ungeheurer Zahl erfüllt erwiesen. Jedes Stadium in dem Fortschritt der Krankheit war bei diesen infizierten Pflanzen genau so charakterisiert wie im Felde, und die fortschreitende Braunfärbung ermöglichte es, die Entwicklung der Bakterien in das Gefäßbündelsystem hinab zu verfolgen, was auch durch viele mikroskopische Untersuchungen demonstriert wurde. Wenn man so klar und deutlich die weitere Ausbreitung der Bakterien von den Wasserporen bis zum Blattstiel verfolgt hat, so ist es doch nicht weiter nötig, von jedem Millimeterblatt Schnitte für das Mikroskop herzustellen, wie Fischer zu verlangen scheint.

Fischer ignoriert ferner meine Mitteilung in Farmers' Bulletin No. 68. Im Sommer 1897, nachdem ich meine im Centralblatt beschriebenen Beobachtungen mitgeteilt hatte, widmete ich 6 Wochen den ausgedehnten Kohlfeldern von Wisconsin, Michigan, Ohio und New York, wo eine ungeheurere Zahl von Infektionen durch die Wasserporen beobachtet werden konnte, ja 50—150 separate Infektionen an vielen einzelnen Pflanzen zu bemerken waren (p. 6 u. 7 jenes Bulletins). Ich machte auch bei dieser Gelegenheit vielfachen Gebrauch von Mikroskop und Kulturmethoden.

Betreffs der in meiner ersten Abhandlung beschriebenen Infektionen durch die Wasserporen bemerkt Fischer noch:

„Das ging aber äußerst langsam vor sich: ‚The progress of the disease for the first three weeks was very slow, so slow in fact, that I was almost ready to abandon the experiment as a complete failure.‘ Das Absterben der Pflanze nach erfolgter Infektion schritt nur sehr langsam fort. In manchen Fällen im Treibhaus tritt der Tod erst nach mehr als einem Jahr ein.“

Die Citate sind verschiedenen Abhandlungen entnommen, beziehen sich auf verschiedene Dinge und sind unvollständig. Das erste Citat wäre vollständig, wie folgt:

„The progress of the disease for the first three weeks was very slow, so slow in fact that I was almost ready to abandon the experiment as a complete failure. Subsequently the movement of the disease was more rapid and in every way satisfactory.“

Meine Impfungen mittels Nadelpunktur führten zu einer allgemeinen Infektion der Pflanze und zu überzeugenden Resultaten nach 3 Wochen (siehe z. B. Fig. 5 auf Tafel VI im Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. III, und die darauf bezügliche Erklärung).

Daß der Tod sich nicht immer rasch nach einer Infektion einstellte, bedeutet nichts gegen meine Experimente. Bei Lepra und Tuberculosis verstreicht oft lange Zeit zwischen der Infektion und dem Tod, warum sollte denn nicht Ähnliches bei Pflanzen vorkommen? Bei Pflanzen wie bei Tieren kommen innerhalb derselben Species verschiedene Grade von Empfindlichkeit vor, was wohl berücksichtigt werden muß.

Beim zweiten Citat befand sich in meiner Abhandlung noch folgender Satz:

„Noch mehr, ich habe aus dem geschwärzten Holzcyylinder von verkümmerten (in kleinen Töpfen zurückgehaltenen) Pflanzen dasselbe Bakterium isoliert 15 Monate nach erfolgter Infektion, und zwar mehr als 3 dm oberhalb der Insertionsstelle.“

Langsam wachsende Pflanzen unterliegen auch viel langsamer wie rasch wachsende, wie ich auch in meiner zweiten Abhandlung bemerkt habe, und das sollte auch der eben citierte Satz hervorheben. Fischer dagegen benützt diese Thatsache, um alle meine Infektionen zweifelhaft erscheinen zu lassen.

Wie man mir sagte, hat Fischer auch privatim meine Wasserporeninfektion durch die Immersionsmethode als eine „sehr rohe“ bezeichnet. Das mag sein, ich habe jedoch damit die erwarteten Resultate erhalten. Meine Gründe, die Infektion durch die Wasserporen auf diese Weise zu erzielen, daß ich einen Teil des Blattes einige Stunden in sterilisiertes Wasser tauchte, in welchem eine Reinkultur der bestimmten Bakterien aufgeschwemmt war (anstatt direkt die Bakterien auf die Wasserporen zu übertragen, welches der natürlichste Weg gewesen wäre) waren die folgenden: Erstens, meine Versuche wurden in einem warmen Klima, in einem Glashauss ausgeführt, wo die Nachttemperatur sehr selten soweit fiel, daß Wasser aus dem Blatt sich auf den Wasserporen ansammeln konnte. Zweitens wünschte ich überzeugende Resultate in möglichst kurzer Zeit zu erhalten. Wenn ich mich auf die indirekte Infektion der Wasserporen unter diesen Bedingungen verlassen hätte, so hätte es wohl eintreten können, daß die Feuchtigkeit auf den Wasserporen nicht herausgetreten oder wieder verdunstet wäre, bevor eine richtige Infektion stattgefunden hätte, und so hätte ich entweder irreführt werden können oder hätte durch wiederholt nötige Versuche meine Mitteilungen noch lange hinausschieben müssen, was ich nicht riskieren wollte. Russell und Harding jedoch, welche in einem kühleren Klima experimentiert haben, erhielten in zahlreichen Fällen Infektionen durch die Wasserporen bei Uebertragung von Bakterien in die ausgetretenen Tropfen. Harding sagt:

„Man kann die natürliche Art der Ansteckung nachahmen, wenn man am frühen Morgen, wenn die Wassertropfen noch vorhanden sind, die Kultur direkt in die an der Pflanze hängenden Tropfen einbringt. Unter ein paar Hundert solcher In-

fektionen gaben am Kohl nicht weniger als 50 Proz. gute Ansteckungen¹⁾.“

In meiner Mitteilung über die Kohlkrankheit habe ich ausdrücklich hervorgehoben, daß bei meinen Infektionen über 60 Fälle erfolgreich waren, aber Fischer setzt in ganz unberechtigter Weise das Wort „angeblich“ hinzu. Ich sagte ferner:

„Pure cultures were used in making these inoculations and from the subsequently and consequently diseased plants and at long distances from the place of infection, the yellow organism has been isolated a number of times, and always with the same cultural characters and pathogenic properties.“

Die letzten 10 Worte, welche gesperrt gedruckt sind, meinen selbstverständlich, daß nach dem Züchten in verschiedenen Nährsubstraten bei den ursprünglichen Mikroben keine Abweichungen aufgefunden werden konnten, daß beim Wiedereinimpfen in andere gesunde Pflanzen dieselbe Krankheit wieder erzeugt wurde und ferner der *Pseudomonas* wieder in großer Zahl in dem Gefäßbündelsystem bei mikroskopischer Untersuchung aufgefunden und herauskultiviert wurde. Welche andere Deutung konnte denn sonst in jene Worte gelegt werden? Und trotzdem sagt Fischer:

„Solche Versuche in einem kurzen Lehrbuch der Bakteriologie nicht zu erwähnen, war meine Pflicht.“ Und: „Meine von Smith bekritelte Darstellung war jedenfalls für ein Buch von dem geringen Umfange meiner Vorlesung ganz ausreichend.“

Was meine erfolgreichen Infektionen mit *Bacillus tracheophilus* bei Cucurbitaceen betrifft, so sagte ich im Jahre 1895:

„Etwa 30 Gurkenpflanzen wurden durch Impfungen mit in Nährlösungen und auf Agar und Kartoffeln gezogenen Reinkulturen infiziert und bei einer geringeren Anzahl wurde die Krankheit durch mit Bacillen bespritzten Insekten (*Diabrotica vittata* Fabr. und *Coreus tristis* de Geer) hervorgebracht. Unter den vielen Versuchen der letzten 5 Monate ergaben etliche Serien der Blattimpfungen bis zu 100 Proz. positive Resultate. Folgendes als Beispiel.“

1) Harding, Die schwarze Fäulnis des Kohls und verwandter Pflanzen, eine in Europa weit verbreitete bakterielle Pflanzenkrankheit. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. VI. p. 305.)

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber einige an tropischen Kulturpflanzen beobachtete Pilze. I.

Von Prof. Dr. A. Zimmermann in Buitenzorg.

Mit 24 Figuren.

Obwohl ich manche der im Folgenden beschriebenen Pilze erst sehr lückenhaft untersuchen konnte, habe ich meine Untersuchungen doch schon jetzt der Oeffentlichkeit übergeben, weil das Material für dieselben zum Teil nur schwer zu erhalten ist und ich infolgedessen nicht weiß, wann es mir möglich sein wird, von allen beobachteten Pilzen eine lückenlose Beschreibung zu geben. Ich hoffe aber, im Laufe der Zeit noch manche der jetzt vorhandenen Lücken auszufüllen und auch noch weitere Beiträge zur tropischen Pathologie liefern zu können.

Die beschriebenen Pilze sind übrigens nur zum Teil echte Parasiten und zum größeren Teil jedenfalls ganz unschädlich für ihre Wirtspflanzen. Wenn ich auch die Pilze der letzteren Art an dieser Stelle beschreibe, so geschieht dies einerseits, weil es vielfach schwierig ist, für einen Pilz mit Sicherheit anzugeben, ob er zu den echten Parasiten gehört und weil es andererseits für den Phytopathologen vielfach nützlich sein kann, auch die auf den Kulturpflanzen vorkommenden nicht parasitären Pilze genau zu kennen.

1. *Trametes Theae* n. sp.

Fruchtkörper (Fig. 1) umgewendet, angewachsen, dünn, schmutzig gelb, 5—8 mm im Durchmesser; Porendurchmesser 0,15 mm. Reife Sporen konnten bisher leider nicht beobachtet werden; ich muß mir deshalb eine ausführliche Beschreibung dieses Pilzes vorbehalten.

Vorkommen. Im März 1899 wurden mir von einer Theeunternehmung Westjavas kranke Theepflanzen zugesandt mit der Angabe, daß die Krankheit in einer $2\frac{1}{4}$ -jährigen Anpflanzung ziemlich häufig auftritt und zuerst an einem allmählichen Welkwerden der Blätter zu erkennen ist. Später werden dieselben trocken, fallen ab und die Pflanze stirbt ab.

An den betreffenden Pflanzen war schon mit bloßem Auge wahrzunehmen, daß die Hauptwurzel bis zum Wurzelhals hinauf und ebenso auch die jungen Seitenwurzeln mit einem dicken Pilzmycel bedeckt waren, das in den Anfangsstadien rotbraun, später schwarz gefärbt war. Die mikroskopische Untersuchung ergab, daß auch in Rinde und Holz Pilzhyphen vorhanden waren. Das Holz zeigte stellenweise eine karminrote Färbung, die durch einen

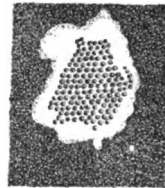


Fig. 1. Fruchtkörper von *Trametes Theae*. 4mal vergr.

im Zellinhalt befindlichen Farbstoff, der auch durch kochendes Wasser nicht extrahiert werden konnte, veranlaßt wird.

Wurden derartige Wurzelstücke in einen feuchten Raum gebracht, so bedeckten sie sich innerhalb 24 Stunden mit einem rein weißen Schimmel, der pinselartig nach allen Seiten ausstrahlte. Nach mehreren Wochen traten daran die beschriebenen Fruchtkörper auf. Später habe ich den Pilz auch auf einer anderen Theeunternehmung beobachtet, wo durch denselben ein Komplex von ca. 100 Pflanzen getötet war.

2. *Beniophora Coffeae* n. sp.

Fruchtkörper der Unterlage aufliegend, dünn, lederartig, bis 5 mm im Durchmesser; Rand mit strahligen Fasern, hellgelblich; Hymenium rostbraun, sammetartig. Cystiden einzeln stehend, langgestreckt konisch, weit über die Basidien hervorragend, dickwandig, zugespitzt, glatt, 80–95 μ lang und 8 μ breit, rotbraun; Basidien 4-sporig; Sterigmen 3 μ lang; Sporen hyalin, glatt, kugelig, Durchmesser 5–6 μ .

Findet sich auf Java stellenweise auf der Rinde lebender Zweige von *Coffea arabica*, aber ohne denselben anscheinend den geringsten Schaden zuzufügen.

3. *Hypochnus Gardeniae* n. sp.

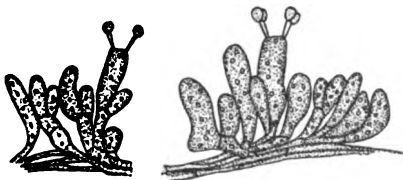


Fig. 2. Hymenium von *Hypochnus Gardeniae* mit jungen Basidien. 520mal vergr.

Der Pilz bildet an den Zweigen weiße, bis 1 mm breite, flache Stränge, die auch auf den Blattstiel übergehen und sich von hier aus auf der Unterseite der Blätter ausbreiten, und zwar entsteht hier zunächst ein sehr zartes, auch mit der Lupe kaum sichtbares Hyphengeflecht. Dasselbe besteht aus Strängen, die

aus mehreren, bis 13 μ dicken Fäden zusammengesetzt sind und meist parallel dem Hauptnerv des Blattes verlaufen, und aus zwischen diesen Strängen verlaufenden dünneren Fäden, die sich in allen möglichen Richtungen durchkreuzen. Ein Eindringen dieser Fäden in die Zellen der Wirtspflanze findet nicht statt. Später entstehen auf diesem Hyphengeflecht, das gleichzeitig eine hell fleischrote Farbe annimmt, die Basidien; diese (Fig. 2) sind büschelartig vereinigt, cylindrisch, 15–20 μ lang und mit 4 Sterigmen versehen, die 4–5 μ lang sind. Die Sporen sind eiförmig, hyalin, 5–6 μ lang und 4–5 μ breit.

Auf *Gardenia florida* im botanischen Garten zu Buitenzorg, die befallenen Zweige allmählich tötend.

4. *Corticium javanicum* n. sp.

Hymenium membranartig, den Stamm und die Unterseite der Seitenzweige auf weite Strecken überziehend, fleischfarbig oder

etwas gelblich, dem Substrat mit anliegend, das nach oben hin zu schließt; Cystiden nicht vorhanden; Basidien (Fig. 3 A u. B) keulenförmig, 4-sporig; Sterigmen zart, 4—6 μ lang; Sporen hyalin, birnförmig, mit einem kleinen Ansatz an dem spitzen Ende, 9—12 μ lang und 6—7 μ breit. Sie keimen leicht in Wasser. Der Keimschlauch kann dabei an jeder beliebigen Stelle austreten (Fig. 3 C).

einem lockeren Hyphengeflecht der Basidialschicht zusammen-

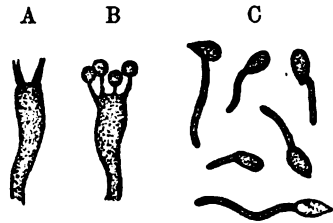


Fig. 3. *Corticium javanicum*. A Basidie mit Sterigmen; B Id. mit jungen Sporen; C Reife Sporen, 2 Stunden nach der Aussaat in Wasser. A und B 520mal, C 390mal vergr.

Der Pilz findet sich häufig auf *Coffea arabica* und *Coffea liberica* und verursacht auf diesen eine Krankheit, die auf Java — neben verschiedenen anderen weniger häufigen Kaffeekrankheiten — als „djamur upas“ (d. h. Giftpilz) bezeichnet wird. Die oberhalb der Infektionsstelle gelegenen Pflanzenteile sterben stets ab.

Der gleiche Pilz kommt außerdem auch auf verschiedenen anderen Pflanzen vor, so auf *Thea chinensis*, *Bixa orellana* und *Boehmeria nivea*.

An den gleichen Zweigen, an denen das *Corticium javanicum* auftritt, findet man häufig weiße Kugeln von 0,15—0,3 mm Durchmesser. Dieselben treten sowohl auf der Ober- als auch auf der Unterseite der Zweige auf und sind außerdem auch namentlich häufig an den Früchten zu finden.

Sie stehen mit einem oberflächlichen Mycel in Zusammenhang und sind ganz aus dünnwandigen Zellen aufgebaut, woran keine Fortpflanzungsorgane irgendwelcher Art beobachtet werden konnten. Auch scheinen es keine Sklerotien zu sein, da die die weißen Kugeln zusammensetzenden Zellen stets dünnwandig und relativ arm an Inhaltsstoffen bleiben. Soweit ich bisher beobachten konnte, vertrocknen sie einfach an den Zweigen, auf denen sie sitzen.

Die unter den Kugeln gelegenen Pflanzenteile sterben — zum mindesten in den nahe der Oberfläche gelegenen Schichten — ab und erhalten eine dunkelbraune bis schwarze Färbung. Namentlich in den befallenen Früchten kann man häufig beobachten, daß nur das in der Umgebung der Kugeln gelegene Beerengewebe braun wird.

Es ist wohl wahrscheinlich, daß die weißen Kugeln mit dem *Corticium* in genetischem Zusammenhange stehen. Sie treten stets vor demselben auf.

5. *Nectria* (*Dialonectria*) *coffeicola* n. sp.

Perithezien (Fig. 4 A) meist in größerer Menge beisammen stehend, aber ohne fleischiges Stroma direkt dem Substrat aufsitzen, kugelig, mit etwas vorragender Mündung, Durchmesser bis 0,3 mm, Längsachse bis 0,4 mm, anfangs zinnoberrot, später mehr bräunlich, Mündung farblos, später zuweilen etwas bläulich; Asci

(Fig. 4 *B*) 8-sporig; Sporen (Fig. 4 *C*) hyalin, in der Mitte nicht eingeschnürt, elliptisch, stumpf endigend, 10,5–13 μ lang und 5 μ breit.

Die Askosporen keimen in Nähragar ziemlich schnell und hatten in 24 Stunden bereits ein großes Mycel gebildet, an dem nach weiteren 24 Stunden zahlreiche Conidien entstanden waren. Diese sind schwach sichelförmig gebogen und von sehr verschiedener Länge (11–30 μ), während die Breite 3–4 μ beträgt. Auch bei den längsten konnte ich Querscheidewände nicht wahrnehmen. Wie Fig. 4 *D* und *F* zeigt, entstehen diese Conidien zu mehreren

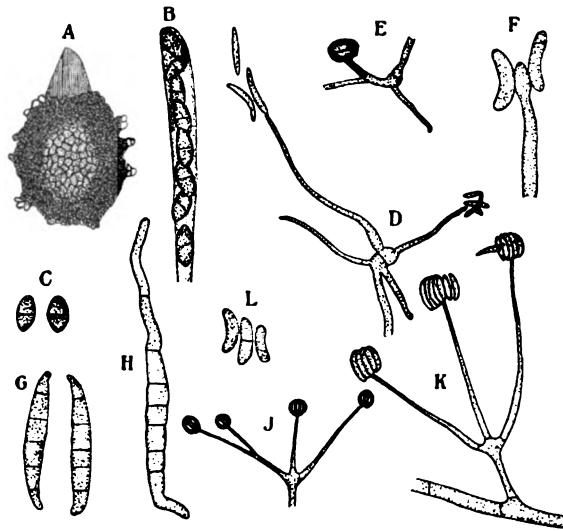


Fig. 4. *Nectria coffeicola*. *A* Perithecium, *B* Ascus, *C* Sporen, *D* und *E* Stücke von aus Ascosporen gebildeten Mycelien mit Conidien, bei *E* Conidien in Luft gebildet; *F* Bildung der Conidien; *G* auf einem Kaffeezweig gebildete Conidien, *H* Keimung derselben; *J* und *K* an älteren Mycelien gebildete Conidienköpfchen; *L* einzelne Conidien. *A* 56mal, *B*, *C*, *G*, *H*, *K*, *L* 420mal, *D* und *E* 236mal, *F* 520mal und *J* 283mal vergr.

an der Spitze von Mycelfäden. Sind diese aus dem Substrat in die Luft hineingewachsen, so werden die Sporen durch eine schleimartige Substanz zu einer Kugel zusammengehalten (Fig. 4 *E*).

Ähnliche, aber bedeutend längere Conidien sah ich überall in der Umgebung der Peritheciën, und zwar meist vor diesen auf den Kaffeezweigen entstehen. Dieselben (Fig. 4 *G*) sind 4–6-zellig, 40–50 μ lang und ca. 5 μ breit. Daß diese Conidien wirklich zu *Nectria coffeicola* gehören, wird dadurch sehr wahrscheinlich, daß dieselben bei der Keimung in Nähragar (Fig. 4 *H–K*) dieselben Conidien bilden wie die Askosporen. Dieselben waren gewöhnlich einzellig, aber einzelne auch zweizellig (Fig. 4 *L*). An den in Luft befindlichen Hyphen waren sie ebenfalls durch eine schleimartige Substanz zu einer Kugel vereinigt (Fig. 4 *J*).

Bezüglich der aus den beschriebenen Conidien entstehenden Mycelien will ich noch erwähnen, daß bei ihnen die Wachstumsrichtung der Seitenäste eine gewisse Regelmäßigkeit zeigt, insofern die an dem apikalen Ende der Zellen entstehenden nach vorn hin, die an dem der Konidie zurückgekehrten Ende auswachsenden aber mehr oder weniger stark nach rückwärts wachsen (Fig. 5). Nicht selten bildete die Wachstumsrichtung dieser Zweige mit der Achse einen Winkel von beinahe 180° .

Der beschriebene Pilz zeigt mit *Nectria saccharina* Berk.

und Cook, die auf Cuba auf faulenden Kaffeezweigen beobachtet wurde, nach der mir allein zugänglichen Diagnose von Saccardo (Sylloge II. p. 489) eine gewisse Uebereinstimmung. Er scheint aber doch nicht mit dieser Art identisch zu sein. Namentlich fehlt dem japanischen Pilze ein fleischiges Stroma, während Saccardo *Nectria saccharina* zu der Untergattung *Eunectria* stellt.

Verbreitung. Ich fand die *N. c.* sehr häufig auf älteren Stammstücken von *Coffea arabica*, die einige Zeit im Laboratorium in feuchter Luft aufbewahrt waren. Einmal fand ich sie auch im Freien, und zwar auf der Rinde eines auf Stumpf gekappten Bäumchens, das nur einen spärlichen Ausläufer gebildet hatte und im Begriff stand abzusterben. Ob hier aber die *Nectria* die Ursache des Absterbens war, ist sehr zweifelhaft, da an dem betreffenden Bäumchen das Cambium vollkommen gebräunt war und zahlreiche Fliegenlarven enthielt, während ich Pilzmycel in demselben nicht wahrnehmen konnte. Infektionen von Stammwunden lebender Bäume gaben ein vollkommen negatives Resultat.

Der Pilz kommt außerdem noch auf verschiedenen anderen Pflanzen vor, so auf dem Stamm von *Melia Azedarach* und abgestorbenen Früchten von *Theobroma Cacao*.

6. *Nectria coffeicola* var. *ochroleuca* nov. var.

Unterscheidet sich von der im Vorstehenden beschriebenen Art nur durch die hellgelbe Farbe und die geringere Größe der Perithezien (Diam. 30—72 μ).

Ich fand beide Arten von Perithezien dicht nebeneinander auf abgestorbenen Kaffeezweigen.

7. *Nectria striatospora* n. sp.

Perithezien oberflächlich, gesellig, kugelig, blutrot, Mündung warzig, schwarz; 0,4 mm lang, 0,3 mm breit. Asci 8-sporig, 100 μ lang. Sporen (Fig. 6) 2-zellig, hyalin, stumpf, in der Mitte schwach

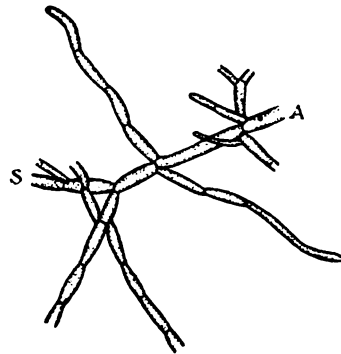


Fig. 5. Stück von einem Mycel von *Nectria coffeicola*: S der Spore, A der Spitze zugekehrtes Ende. 240mal vergr.



Fig. 6. Sporen von *Nectria striatospora*. *A* auf die Oberfläche, *B* auf den optischen Querschnitt eingestellt. 930 mal vergr.

eingeschnürt, 23 μ lang, 9 μ breit. Die Sporenmembran zeigt Längsstreifung, die am deutlichsten an den entleerten oder gekeimten Sporen zu sehen ist.

Auf der Stammrinde von *Theobroma Cacao*, Buitenzorg. Wahrscheinlich nicht schädlich.

8. *Calonectria Meliae* n. sp.

Die beinahe kugeligen Perithechien (Fig. 7 *A*) dichtgedrängt, 1—3 mm große Flecken bildend, hell schmutzig gelblich, bestäubt, mit farbloser, vorragender Mündung, Durchmesser 0,23—0,30 mm; Asci (Fig. 7 *B*) 70 μ lang, 4-sporig; Sporen (Fig. 7 *C*) farblos, gerade oder schwach gekrümmt, an beiden Enden stumpf, 4-zellig (sehr selten 5- oder 6-zellig), 28—32 μ lang und 9—12 μ breit.

Vor den Perithechien entstehen auf den gleichen Flecken 6—8-zellige Conidien (Fig. 7 *D* und *E*), die 46—64 μ lang und 5,3—6,5 μ breit sind.

Die Askosporen keimen in Nähragar sehr schnell, wobei meist alle 4 Zellen einen oder mehrere Keimschläuche bilden. Die an diesen Mycelien entstehenden Conidien sind 1- oder 2-zellig. Gleichartige Conidien entstanden aber in Nähragar auch aus den großen 6—8-zelligen Conidien, die auf *Melia*-Aesten gebildet waren (Fig. 8).

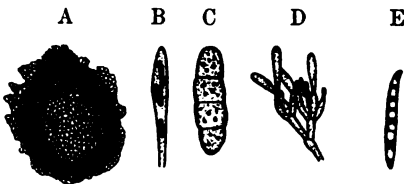


Fig. 7. *Calonectria Meliae*. *A* Perithecium, *B* Ascus, *C* Ascospore, *D* Conidienträger, *E* Conidie. *A* 56 mal, *B* 190 mal, *C* 520 mal, *D* und *E* 240 mal vergr.

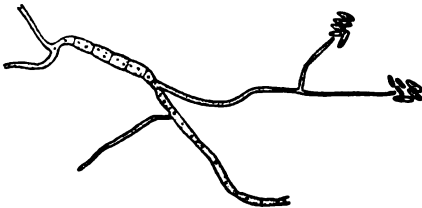


Fig. 8. *Calonectria Meliae*, Conidie. 20 Stunden nach der Aussaat in Nähragar. Das Mycel nur teilweise gezeichnet. 240 mal vergr.

Von der in Schweden auf *Melia Azedarach* beobachteten *Calonectria Cucurbitula* Sacc. ist obige Art u. a. durch die 4-sporigen Asci und die viel größeren Sporen zu unterscheiden. Auch mit den anderen von Saccardo (Sylloge. II. p. 540) angeführten Arten der Gattung *Calonectria* stimmt unser Pilz nicht überein.

Ich fand den Pilz zuerst in meinem Garten zu Buitenzorg an einem absterbenden Stamme von *Melia arguta*. Infektionsversuche mit abgeschnittenen Stammstücken zeigten aber, daß er auch auf *Melia Azedarach* gedeiht. (Schluß folgt.)

Referate.

Schlerbeck, N. P., Ueber die Variabilität der Milchsäurebakterien mit Bezug auf die Gärungsfähigkeit. (Archiv f. Hygiene. Bd. XXXVIII. Heft 3.)

Bis jetzt liegen noch sehr wenig Versuche über Variationen der Gärfähigkeit von Bakterien vor, obschon gerade das Studium dieser Funktion in mehreren Beziehungen für die Aufklärung der Begrenzung und der Natur der Variabilität weit größere Vorteile bietet, als die Untersuchung anderer Funktionen (Pathogenität, Farbstoffbildung), teils weil die physiologische Thätigkeit, um die es sich hier handelt, eine Wirkung hat, welche sich quantitativ ganz anders bestimmen läßt, und deren Nüancen man deshalb leichter zu verfolgen vermag, teils weil wir durch unsere Untersuchungen über Gärungsfähigkeit der Frage gleichsam einen Schritt näher zu Leibe rücken, indem wir unseren Bakterienrassen hier denjenigen Nährstoff bieten können, der das adäquate Irritament der den Gegenstand unserer Untersuchungen bildenden Thätigkeit ist.

In vorliegender Arbeit macht sich deshalb Verf. zur Aufgabe, die Frage nach der Variabilität der Gärungsfähigkeit weiteren Untersuchungen zu unterwerfen. Zu denselben wurden Milchsäurebakterien gewählt, weil die Wirkung der Gärung hier mittels einer einfachen Säuretitrierung leicht zu bestimmen ist. Das betreffende Milchsäurebakterium wurde aus spontan koagulierter Milch isoliert, das in seinem Aeußeren und im Verhalten seines Wachstums sich dem von Thierfelder und Günther in der Berliner Milch vorgefundenen, wie auch mehreren der von Storch und Jensen beschriebenen Formen sehr ähnlich war.

Verf. untersuchte nun die Größe und den Verlauf des von diesen Bakterien in der Milch erzeugten Milchsäuregrades unter verschiedenen Verhältnissen. Als Maßstab hierfür benutzte er die in der Milch gebildete Milchsäure, die durch Titrieren mit $\frac{1}{10}$ N Natron bestimmt wurde. Der Säuregrad wird ausgedrückt als ccm $\frac{1}{10}$ N Natron, das zur Sättigung von 100 ccm Milch mit Phenolphthalein als Indikator gebraucht wird. Nach Angabe des Verf.'s findet man in frischer Milch den Säuregrad auf diese Weise ausgedrückt = 15—16.

Die oben genannten, von Verf. verwendeten Milchsäurebakterien rufen, in Milch gebracht, in dieser eine Säurebildung hervor, die in Betreff ihres Verlaufes je nach der Temperatur, bei welcher die Milch steht, sehr verschieden ist. Beträgt diese z. B. 35°, so bleibt der Säuregrad während der ersten 2—3 Stunden unverändert, steigt dann stark bis zur 15. Stunde, wird dann langsamer bis ungefähr zur 36. Stunde, wo das Maximum der Säurebildung so ziemlich erreicht ist. Der bei dieser Temperatur erreichte Säuregrad beträgt 88—90, bei demselben hört die Gärung auf, wahrscheinlich deshalb, weil die Bakterien nicht mehr imstande sind, die schädliche Einwirkung der gebildeten Säure zu überwinden. Die spontane

Koagulierung der Milch tritt um die 11.—12. Stunde ein, wo der Säuregrad ca. 58—60 ist.

Bei allen anderen Temperaturen bleibt der Säuregrad länger als 2—3 Stunden unverändert. Die Gärung beginnt später und schreitet zugleich langsamer fort. Dagegen erreicht sie bei Temperaturen unter 35° eine absolut größere Höhe, z. B. bei 28° ca. 101, bei 18° ca. 110, doch werden diese Maxima erst später erreicht, bei 28° z. B. erst in der 48. Stunde, bei 18° am 6. Tage. Bei allen Temperaturen über 35°, die den Bakterien noch Wachstum gestatten, verläuft die Gärung ebenfalls langsamer und das Maximum der Säure ist hier niedriger als bei 35°. Das Temperaturoptimum dieser Milchsäurebakterien liegt also rücksichtlich der Geschwindigkeit, mit welcher die Gärung verläuft, bei ca. 35°. Es erwies sich ferner, daß diese, den einzelnen Temperaturen entsprechende Größe der Gärung nach wiederholten Verimpfungen in Milch bei der nämlichen Temperatur unverändert bleibt. Werden z. B. bei 35° eine Reihe von Kulturen durch tägliche Verimpfung aus Milch in Milch angelegt und diese Milchproben nach Verlauf von ca. 2 Tagen untersucht, wenn die Gärung also abgelaufen ist, so findet man den Säuregrad aller Proben gleich groß. War der Säuregrad der ersten Kultur z. B. 88, so findet man in der ganzen Reihe, wie Verf. erwähnt, nur Schwankungen zwischen 86 und 89. Bei 28° findet man auf dieselbe Weise einen Säuregrad von ca. 102, bei 37° von ca. 81 in allen Proben, u. s. w. Selbst nach monatelangem Fortsetzen solcher Versuche konnte nicht die geringste Veränderung des Gärungsgrades beobachtet werden.

Den zweiten Teil der vorliegenden Arbeit bilden Versuche, womöglich auf experimentellem Wege eine Variation des Gärungsvermögens dieser Bakterien hervorzurufen. Es gelang in der That, durch Kultivierung auf karbolisierter Milch neue Kulturen zu erzeugen, die bei fernerer Kultivierung auf gewöhnlicher Milch in dieser sehr voneinander abweichende Gärungsgrade hervorriefen, die niedriger waren als die der ursprünglichen Kultur, und die sich eine lange Reihe von Generationen hindurch konstant erhielten. Parallel mit der nachgewiesenen Herabsetzung des Gärungsvermögens fand sich zugleich eine Verminderung der Vermehrungsenergie der Bakterien, dagegen aber eine Zunahme ihrer Widerstandskraft gegen gewisse äußere Einwirkungen, wie z. B. Karbol. Die auf diese Weise entstandenen Kulturen dürfen jedoch nicht als neue Rassen in dem Sinne aufgefaßt werden, als ob sie andauernd oder einstweilen das Vermögen verloren hätten, Säure in demselben Umfang wie die ursprüngliche Kultur zu bilden, denn das Phänomen scheint einzig und allein durch schädliche Faktoren im Nährsubstrat erzeugt zu sein. In der gewöhnlichen Milch spielt die durch die verschiedenen Jahreszeiten bedingte Verschiedenheit ihrer Zusammensetzung die Rolle eines solchen gärungshemmenden Momentes. Das Vorhandensein dieses schädlichen Faktors wird also zu einer anscheinenden Rassenbildung den Anlaß geben können, welches Verhalten nicht nur theoretisches Interesse darbietet, sondern auch zugleich

für die Diagnose unserer Bakterienarten einige praktische Bedeutung wird erhalten können.

Thomann (Bern).

Juckenack, A., Beitrag zur Kenntnis des fadenziehenden Brotes. (Zeitschr. f. analyt. Chemie. 1900. p. 73—81.)

In einer Bäckerei wurde beobachtet, daß die mit Roggenmehl No. 2 hergestellten Schwarzbrote eine in hohem Grade fadenziehende Krume hatten. Diese Erscheinung war derartig, daß sich beim Auseinanderziehen der Krume weiße, seidenartig glänzende, spinnfädengleiche, zum Teil mehrere Decimeter lange Fäden bildeten. Das Brot hatte zugleich einen unangenehmen, aromatischen Geruch und war infolge der klebrig nassen, viskösen Beschaffenheit der Krume ungenießbar.

Da angeblich nach dem Genusse des Brotes Erkrankungen bei Kindern beobachtet worden waren, beschäftigte sich die Polizeibehörde und die Staatsanwaltschaft mit der Angelegenheit. Es wurde infolgedessen an die Kgl. Untersuchungsanstalt in München die Frage gerichtet, ob in vorliegendem Falle der Bäcker oder der Müller sich durch Verbacken bzw. Verkauf verdorbenen Mehles einer strafbaren Handlung schuldig gemacht hätten. Das aus genanntem Mehl hergestellte Brot wurde beschlagnahmt, wie auch der Rest des betreffenden Mehles und Verf. mit der Untersuchung fraglicher Objekte betraut.

Die vorerst angestellte makroskopische Untersuchung ergab, daß die Krume des Brotes vollständig mit kleinen, sich im Laufe der Tage erheblich vergrößernden bräunlichen Pünktchen durchsetzt war; zugleich wurde beobachtet, daß diese bräunlichen Punkte sich zu Fäden ausziehen ließen. Eine mikroskopische Untersuchung dieser braunen Stellen zeigte, daß dieselben Bakterienkolonien darstellten, und daß sowohl das Kohlehydrat als auch der Kleber der Krume an dieser Stelle vollständig verändert waren, mit Jodlösung konnte z. B. eine Blaufärbung nicht mehr erhalten werden. Die bakteriologische Untersuchung der betreffenden Stellen ergab Reinkulturen des *Bacillus mesentericus fuscus* Flügge.

Da Verf. den Erreger der Krankheit des Brotes schon im Mehl vermutete, unterzog er auch dieses einer bakteriologischen Untersuchung. Dieselbe wurde in der Weise vorbereitet, daß sowohl mehrere größere, sterile Kartoffelstücke wie auch Agar- und Gelatineplatten in geeigneter Weise infiziert und bei 28—30° bebrütet wurden. Neben einigen anderen Bakterien und einzelnen Schimmelpilzen kam vorwiegend der *Bacillus mesentericus fuscus* zum Vorschein.

Verf. ließ nun von dem beschlagnahmten Mehl selbst ein Brot herstellen, um zu beweisen, daß nicht etwa eine sekundäre Infektion des Brotes durch Bakterien aus der Luft oder aus unsauberen Gefäßen die Ursache sein konnten. Das erhaltene Brot zeigte dieselbe Erscheinung wie das beim Bäcker beschlagnahmte.

Im Auftrage des Staatsanwalts wurden nunmehr die Räume und die Mehlvorräte des betreffenden Bäckers wie auch der Mühle

inspiziert. In der Mühle, in der in tadellos hellen und luftigen Räumen musterhafte Ordnung und Reinlichkeit herrschten, fand sich noch Roggenmehl No. 2, von welchem der betreffende Bäcker bezogen hatte, vor. Von dem Mehl wurden größere Posten zur Untersuchung entnommen. Die Proben waren sämtlich von guter normaler Beschaffenheit. Die Backversuche lieferten ein vollständig normales Brot. Die bakteriologische Untersuchung des Mehles ergab zwar auch die Anwesenheit des betreffenden Bacillus, aber nur in sehr geringer Menge. Jedenfalls konnte weder das Mehl aus der Mühle, noch das aus demselben gebackene Brot nach 14 Tage langem Aufbewahren als verdorben bezeichnet werden.

Ein anderes Bild bot das Mehllager des Bäckers. Dasselbe befand sich in einem feuchten, sehr schlecht ventilierten Keller. Das Mehl war in hohem Grade von Milben durchsetzt, hatte einen stark moderigen Geruch und stank direkt. Es war daher leicht zu erraten, wo das Mehl „zusammengestanden“ war.

Da es dem Verf. gelang, auch in reinen Roggenmehlen, welche ein gutes und haltbares Brot lieferten, den *Bacillus mesentericus fuscus* vereinzelt nachzuweisen, so unterliegt es keinem Zweifel, daß durch feuchte und dumpfige Lagerung des Mehles diese Bakterien sich derartig vermehren, daß das aus dem betreffenden Mehl gebackene Brot in kurzer Zeit von der Brotkrankheit befallen wird.

Reinmann (Hildesheim).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. ARTHUR WÜRZBURG,
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Grellety, Guerre aux microbes. Pet. 8°. 30 p. Macon (Impr. Protat frères) 1900.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Boni, J., Methode zur Darstellung einer „Kapsel“ bei allen Bakterienarten. [Vorl. Mitteil.] (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXVIII. 1900. No. 20. p. 705—707.)

Cantani jr., A., Ueber die Verwertung von Bakterien als Nährbodenzusatz. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXVIII. 1900. No. 21. p. 743—747.)

Petri, E. J., Ein neuer Reagenzglasständer für Kulturen. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXVIII. 1900. No. 21. p. 747—748.)

— —, Nachtrag zu: Neue verbesserte Gelatineschälchen (verbesserte Petri-Schälchen). (Ibid. No. 22. p. 789—790.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Chodat, E., Le noyau cellulaire dans quelques cas de parasitisme ou de symbiose intracellulaire. 8°. 6 p. Lons-le-Saunier (Impr. Declume) 1900.

Fischer, E., Fortsetzung der entwicklungsgeschichtlichen Untersuchungen über Rostpilze. (Ber. d. schweizer. botan. Gesellsch. 1900. Heft 10. p. 1—9.)

Harlay, V., Du ferment protéolytique des graines en germination. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXI. 1900. No. 16. p. 623—626.)

- Hennings, P.**, Einige neue Uredineen aus verschiedenen Gebieten. (Beibl. z. Hedwigia. 1900. Heft 5. p. 153—155.)
- Kohlbrugge, J. H. F.**, Vibrionen-Studien. I. Die Ubiquität choleraähnlicher Wasser-vibriionen. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXXVIII. 1900. No. 21. p. 721—726.)
- Lühe, M.**, Ueber *Distomum philodryadum* West. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXVIII. 1900. No. 21. p. 743.)
- Massalongo, C.**, De nonnullis speciebus novis micromycetum agri veronensis. (Atti d. r. istit. veneto di scienze, lettere ed arti. Anno acad. 1899/1900. T. LIX. Disp. 8.)
- Möbius, M.**, Nachträgliche Bemerkungen über Parasitismus und sexuelle Reproduktion im Pflanzenreiche. (Biolog. Centralbl. Bd. XX. 1900. No. 23/24. p. 786—789.)
- Sitrikoff, A. u. Rommel, W.**, Vergleichende Untersuchungen über einige sogenannte Amylomyces-Arten. (Ztschr. f. Spiritusindustrie. 1900. No. 43—45. p. 391—392, 401—402, 409—410.)
- Webster, F. M.**, The native home of the San José scale. (30. ann. rep. of the entomol. soc. of Ontario 1899. 1900. p. 55—56.)
- Woronin, M.**, Ueber *Sclerotinia cinerea* und *Sclerotinia fructigena*. (Mémoires d. l'Acad. impér. d. scienc. de St. Pétersbourg. Classe physico-mathémat. Vol. X. 1900. No. 5.) 4^o. 38 p. 7 M.

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

Milch, Molkerei.

- Wenck, P.**, La fermentation pratique de la crème en diverses saisons. (Laiterie belge. 1900. p. 83—86.)

Bier, Brauerei.

- Windisch, W.**, Welche Reaktion ist die günstigste für den Abbau der Eiweißstoffe durch das Eiweiß spaltende Enzym des Malzes? (Wechschr. f. Brauerei. 1900. No. 51. p. 766—767.)

Wein, Weinbereitung.

- Neßler, J.**, Ueber die Weine von 1900 und deren Behandlung, wenn die Trauben krank oder teilweise faul waren. (Wehbl. d. landwirtschaftl. Vereins im Großh. Baden. 1900. No. 46. p. 685—686.)
- Portale, K.**, Antischimmelin. (Weinlaube. 1900. No. 46. p. 541—542.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

- Enoch, C.**, Ueber Raumdesinfektion mit den Karboformal-Briquettes Krell-Elb. (Pharm. Centralhalle. 1900. No. 52. p. 795—797.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Harmlose Bakterien und Parasiten.

- Bernard, N.**, Sur les tuberculisations précoces chez les végétaux. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXI. 1900. No. 16. p. 626—629.)

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

- Bertini, G.**, La fillossera devastatrice, *Phylloxera vastatrix*. 16^o. 143 p. Bari (Tipogr. Avellino e Co.) 1900. 1 £.
- Briosi, G.**, Rassegna crittogamica del Laboratorio di botanica crittogamica di Pavia nei mesi di marzo a luglio 1900. (Bollett. di notizie agrar. 1900. No. 28. p. 1190—1197.)
- Cannon, W. A.**, The gall of the Monterey pine. (Amer. natural. 1900. No. 406. p. 801—810.)
- Casali, C. e Ferraris, T.**, Osservazioni sulla malattia di California in provincia di Avellino. (Bollett. di notizie agrar. 1900. No. 28. p. 1201—1206.)
- Cavazza, D.**, Ampelopatie. Studio ed osservazioni. (Estr. d. Annali d. uffic. provinc. per l'agricolt. Vol. VI. 1900.) 8^o. 51 p. Bologna 1900.
- Conference of the San José scale. (30. ann. rep. of the entomol. soc. of Ontario 1899. 1900. p. 3—14.)

- Durand, E.**, L'acclimatation de l'oidium en France. (Vigne améric. 1900. No. 10. p. 302—305.)
- Fletcher, J.**, Injurious insects in Ontario during 1899. (30. ann. rep. of the entomol. soc. of Ontario 1899. 1900. p. 106—111.)
- Grundner, F.**, Die Verwendung von Kupfersoda gegen die Kiefernscütte. (Allg. Forst- u. Jagd-Ztg. 1900. Nov. p. 369—372.)
- Kamerling, E.** en **Suringar, H.**, Onderzoekningen over onvoldoende groei en ontijdig afsterven van het riet als gevolg van wortelziekten. (Mededeel. v. het laborat. v. onderzoek v. rietziekt. te Probolingo. Overgedr. uit het Arch. v. de Java-suikerind. 1900. Afl. 18.) 8°. 24 p. Soerabaia (van Ingen) 1900.
- Lochhead, W.**, Notes on the economic aspect of the San José scale and its allies. (30. ann. rep. of the entomol. soc. of Ontario 1899. 1900. p. 14.)
— —, Notes on some insects of coniferous shade trees. (Ibid. p. 60—64.)
- Lotta, la**, contro la fillossera nella provincia di Bergamo: iniziativa d. r. scuola d'agricolt. di Grumello del Monte e d. suo direttore D. Tamaro. 8°. 16 p. Bergamo (Frat. Bolis) 1900.
- Mc Dougall, E. S.**, Insect attacks in 1899. (Transact. of the Highland and agricult. soc. of Scotland. Vol. XII. 1900. p. 295—307.)
- Sebastian, V.**, Les vendanges et la pourriture des raisins. (Moniteur vinicole. 1900. No. 83. p. 329—330.)
- Suzuki, U.**, Report of investigations on the mulberry-dwarf troubles — a disease widely spread in Japan. (Bullet. of the College of Agricult., Tokyo Imperial University, Japan. Vol. IV. 1900. No. 3. p. 167—226.)
- Weiß**, Das Stockälchen der Getreidepflanzen (*Tylenchus devastatrix*). — Die Blattläuse. (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1900. p. 85—87.)
- Weiß, J. E.**, Die Verbreitung der Sporen von Krankheitspilzen. (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1900. Heft 11. p. 81—83.)
- Zschokke, A.**, Ueber neuere Erfahrungen bezüglich der Bekämpfung des Heu- und Sauerwurms. (Weinbau- u. Weinhandel. 1900. No. 46. p. 463—464.)

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

- d'Addiego, G.**, Gli insetticidi gassosi. (Estr. d. Giorn. di agricult. d. domenica. 1900. 8°. 9 p. Piacenza (Tip. V. Porta) 1900.)
- Bombe, A.**, Nur Kupfervitriol oder auch Kalk? (Gartenflora. 1900. Heft 6. p. 153—155.)
- Effront, J.**, Les antiseptiques en distillerie. Rapport fait au Congrès de chimie appliquée de 1900. (Journ. de la distillerie franç. 1900. No. 856. p. 509—513.)
- Lonay, A.**, Die Ammoniaksalze, besonders das Ammoniumsulfat als Mittel gegen Nematoden. (Ztschr. d. Vereins d. dtshen Zuckerindustrie. 1900. Nov. p. 967—968.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

- Smith, Erwin F.**, Entgegnung auf Alfred Fischer's „Antwort“ in betreff der Existenz von durch Bakterien verursachten Pflanzenkrankheiten. (Orig.), p. 88.
- Stutzer, A.**, Neue Untersuchungen über die Wirkung von salpeterzerstörenden Bakterien in Nährlösungen. (Orig.), p. 81.
- Zimmermann, A.**, Ueber einige an

tropischen Kulturpflanzen beobachtete Pilze. I. (Orig.), p. 101.

Referate.

- Juckenack, A.**, Beitrag zur Kenntnis des fadenziehenden Brotes, p. 109.
- Schierbeck, M. P.**, Ueber die Variabilität der Milchsäurebakterien mit Bezug auf die Gärungsfähigkeit, p. 107.

Neue Litteratur, p. 110.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Prof. Dr. J. Behrens in Weinsberg i. W.,
Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Dr. v. Freudenreich in Bern, Privatdocent
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Dr. G. Harris Morris
in London, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädenswil, Dr. Erwin F. Smith in
Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr.,
Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel
und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg.

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VII. Band.

Jena, den 23. Februar 1901.

No. 4.

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabsüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

**Beitrag zur Kenntnis der Baumflüsse und einiger ihrer
Bewohner.**

Von Dr. Wilhelm Holtz in Freiburg i. Br.

Mit 2 Tafeln und 6 Abbildungen.

Die Baumflüsse wurden erstmals von F. Ludwig eingehender untersucht; es veranlaßte ihn hierzu die vielfach gemachte Wahrnehmung, daß der aus der Rinde zu Tage getretene Erguß nicht die gewöhnliche wässerige, sondern bald mehr schaumige, bald

mehr schleimige Beschaffenheit zeigte, Erscheinungen, die nicht nur eine starke Aktivität gewisser Mikroorganismen vermuten ließen, sondern auch in manchen Fällen in Verbindung mit anderen Symptomen auf das Vorhandensein einer infektiösen Baumkrankheit hinzudeuten schienen.

Die Resultate seiner ersten Beobachtungen und Untersuchungen veröffentlichte Ludwig im Jahre 1886 in einer Reihe wissenschaftlicher Zeitschriften (1, 2, 3, 4). Wie aus den dort gemachten Mitteilungen zu ersehen ist, traf er erstmals im Jahre 1884 an Eichen in der Nähe von Greiz, später auch, allerdings nur sporadisch, an Ahorn, Zitterpappeln und Birken eine Krankheitserscheinung an, die damit beginnt, daß aus der Rinde sowohl an Stellen, die keine Merkmale äußerer Verletzung tragen, sowie auch aus alten Frostrissen, Astnarben etc. ein weißer Schaum hervorbricht, dessen Geruch nach Bier ihn sofort als das Produkt einer alkoholischen Gärung kennzeichnet. Macht man mit dem Messer in der Nähe der Gäröffnung Einstiche in die Rinde, so quellen neue Schaummassen hervor. In einem späteren Stadium der Krankheit verschwindet die Schaumbildung, die anfangs die Stämme fast handhoch bedeckt, mehr oder weniger und an die Stelle des Schaumes oder auch in Begleitung desselben tritt ein weißlicher, zuletzt öfter gelblicher und dann mehr gallertiger Schleim, der manchmal in großer Menge an den Stämmen herabfließt.

Dies sind nach Ludwig die äußerlich wahrnehmbaren Symptome der Krankheit, die unter dem Namen Alkoholgärung und Schleimfluß lebender Bäume beschrieben wird.

Zu Anfang der Gärung tritt, wie Ludwig auf Grund mikroskopischer Untersuchung festgestellt zu haben glaubt, ein reichverzweigter Hyphomycet auf, dessen Sprossungen die Hauptmasse des Gärungsschaumes ausmachen. Die Hauptmasse des nachfolgenden Schleimes, in welchem die fädige Mycelform mehr oder weniger zurücktritt, wird dann gebildet von Hefezellen und von einem zur Gattung *Leuconostoc* gehörenden Spaltpilze. Die genannten Organismen macht Ludwig für die beobachtete Baumkrankheit verantwortlich. Wahrgenommen wurde die Erscheinung an Eichen verschiedenen Umfanges und Alters, sowohl dicht über dem Boden als auch bis in die Wipfel der Bäume, seltener an Aesten als am Stamme. Im Jahre 1884 wurde die Krankheit sehr häufig und immer unter denselben mikroskopischen Befunden angetroffen. So fand Ludwig im Krümmthale bei Greiz auf einer Strecke von 1 km 28 gärende Eichen mit oder ohne Schleimerguß. Später wurden auch 4 erkrankte Zitterpappeln am selben Orte entdeckt.

Den Krankheitsverlauf schildert Ludwig (4) folgendermaßen: Nachdem an irgend einer Stelle des Saftergusses, an Frostrissen, Astbruchstellen u. s. w. die Pilzinfektion von außen stattgefunden hat, verbreiten sich die Krankheitserreger unter der äußeren Rinde weiter, um bei feuchtem Wetter, wo die Gärung in völliger Ueppigkeit vor sich geht, an anderen, entfernten Stellen, auch an bisher unversehrten, zum Durchbruch zu kommen. An infizierten Bäumen können die Gärungsausbrüche sich jahrelang und oftmals wieder-

holen. In der Regel geschieht dies in den Monaten Juni, Juli und August, so oft feuchte Witterung eintritt, so daß man das Gären der Eichen als Wetterzeichen benutzen könnte. Hält die feuchte Witterung eine kurze Zeit an, so trocknen Schaum und Schleim bald ein, die Gäröffnung bleibt klein und vernarbt bald, jedoch können die inneren Teile der Rinde, des Cambiums und in seltenen Fällen selbst des Holzes durch die Gärwirkungen derart an Substanz verlieren, daß die äußere Rinde einsinkt, schwärzlich wird und zuletzt abstirbt. Bei anhaltend feuchter Witterung vergrößert sich der Gärherd immer mehr, so daß unter Mitwirkung der nachfolgenden Spaltpilzgärungen und Fäulniserscheinungen und der Larven fäulnisliebender Insekten (Silpha) der Baum von der durch die Gärung gelockerten und zerfaserten Rinde auf Handbreite und -länge völlig entblößt wird. Zuweilen werden auch die obersten Holzschichten durch die Alkoholgärung und die nachfolgenden Prozesse in Mitleidenschaft gezogen. Die so entblößten Stellen sind meist noch nach Jahren an der am Umfange zerfaserten Rinde kenntlich. Die Wundränder vernarben bald, neue Gärungen brechen aber nicht nur an anderen Stellen des Baumes, zuweilen gleichzeitig an 4—5 Stellen, sondern auch unter dem vernarbten Rande hervor. Es wird dann die die alte Stelle umgrenzende Rindenschicht gewöhnlich bis auf eine gewisse Breite vernichtet, worauf von neuem Vernarbung eintritt. Zuweilen erstreckt sich nach und nach diese Zerstörung um mehr als die Hälfte des Eichenstammes herum. Man kann die Zahl der stattgehabten Gärungsausbrüche an der Zahl der überwallten Holzschichten erkennen. Nur bei kleineren Schädigungen vernarbt häufig die ganze Wundblöße wieder völlig. Die Pilzkrankheit kehrt an demselben Baume oft jahrelang wieder; es muß deshalb angenommen werden, daß die beteiligten Pilze, sei es in Mycelform oder in besonderen Dauerzuständen, am Baume überwintern. Da die Krankheit krebsartig um sich greift, kann schließlich der Untergang der Bäume herbeigeführt werden, doch scheint dies nur bei jungen Bäumen der Fall zu sein, während ältere, dicke oft lange Widerstand leisten, besonders wenn das Holz nicht in Mitleidenschaft gezogen wird.

Die Ausbreitung der Krankheit am Baume erläutert Ludwig durch einige Abbildungen.

Die Uebertragung soll vor allem durch Insekten, die von dem Saft naschen, geschehen. Besonders häufige Besucher sind nach Ludwig Hornisse, Wespen, Hirschkäfer, aber auch zahlreiche kleine, den verschiedensten Ordnungen angehörige Arten.

Einige Jahre später publizierte Ludwig unter dem Namen „brauner Schleimfluß lebender Bäume“ eine zweite von ihm beobachtete Baumkrankheit, die ebenfalls vom Saftflusse ausgehen soll, und die er hauptsächlich an Apfelbäumen (erstmal bei Schmalkalden), später aber auch an Ulmen, Pappeln, Roßkastanien, seltener an Eichen beobachtete. Dieselbe sei von der früher beschriebenen Alkoholgärung mit Schleimfluß wohl zu unterscheiden und bestehe darin, daß aus dem Holze des Stammes ein rostbrauner bis gelber, zäher, nicht gallertiger Schleim hervortritt.

Dieser braune Schleimfluß hatte nicht, wie bei der Eichenkrankheit, seinen Sitz in der Rinde und im Cambium, sondern im Holze. Der Schleim wie auch das morsche, in Zersetzung begriffene Holz hat einen Buttersäuregeruch und enthält nach Untersuchung von Matthias freie Buttersäure.

Auch hier zeigte der mikroskopische Befund eine Symbiose eines *Endomyces*-artigen Pilzes (ähnliche Mycelverzweigung und Sporenabgliederung wie *Endomyces Magnusii*) und Bakterien, denen aber wohl hier der Hauptanteil der eigentümlichen Zersetzung des lebenden Apfelbaumes zufällt. Die braune Färbung des wässrigen, nicht gallertigen Schleimes rührte her von den perlchnurartig zusammengereichten, öfter verzweigten Conidienreihen des *Hypomyceten*.

Bei Roßkastanien zeigte dieser Schleimfluß ein mehr rötliches bis rotbraunes Aussehen, er bestand ebenfalls aus Bakterien und kugeligen Gonidien in perlchnurartiger Anordnung. Manche Formen dieser Krankheit erinnerten Ludwig sehr an das „Pear blight“ der Amerikaner. Was wir sonst noch hierüber mitgeteilt finden, bezieht sich vor allem auf die mikroskopische Untersuchung des Schleimes. Ludwig stellte fest, daß der Hyphenpilz eine *Torula*-Art ist, die sich an eingetrockneten Stellen der erkrankten Stämme hauptsächlich in der Mycelform vorfindet, und zwar *Torula monilioides* Corda oder eine nahe verwandte Art. Die im Schleim vorhandenen massenhaften Perlchnüre von Gonidien dürften zu dieser Form gehören (nach Saccardo état submergé oder hydrobiotique). Ueber die massenhaft angetroffenen Bakterien macht Ludwig erst später genauere Mitteilungen. Er konnte zuerst nur die Anwesenheit freier, nicht in Gallerte gehüllter Kokken konstatieren. Nachmals benannte Ludwig die im Schleime hauptsächlich vertretene Bakterienart *Micrococcus dendroporthos*.

Die braunen Schleimflüsse dauern nach Ludwig vom Frühjahr bis in den Winter hinein. Alle von den Urheerpilzen zerstörten Stellen der Stämme zeigen nicht das gefaserte Aussehen, welches die durch die Eichenpilze zerstörten Rindenstellen so leicht kenntlich macht. Ludwig beobachtete die Krankheit stets in vollem Gange, nicht in ihrem Anfangsstadium. Er konnte indessen feststellen, daß in frischem Schleime fast nur Mikrokokken vorhanden waren in Gesellschaft der *Torula*, während später eine ganze Reihe anderer Baumflußorganismen auftrat. Auch hier wiederholt sich der Fluß am selben Baume oft jahrelang; der Schleim wurde von ganz anderen Insekten besucht.

Außer diesen beiden am häufigsten vorkommenden Krankheitserscheinungen beschrieb Ludwig noch eine Reihe seltener auftretender, die er teils selbst beobachtete, teils von anderer Seite mitgeteilt erhielt. So einen schwarzen Schleimfluß der Ulme und Birke (von Lagerheim bei Berlin gefunden), einen schwarzen Schleimfluß der Eiche, einen Milch- und Rotfluß der Hainbuche, einen Moschusfluß der Linde u. s. w. Da diese Phänomene alle nur mehr sporadisch vorzukommen scheinen und eben dieses ihres

seltenen Vorkommens wegen bisher nur sehr mangelhaft untersucht werden konnten, so darf auf ihre nähere Beschreibung wohl verzichtet werden, um so mehr, als letztere etwas wesentlich Neues auf dem Gebiete dieser pathologischen Erscheinungen nicht bringen könnte. Desgleichen kann von einer Aufzählung der zahlreichen, in den Baumflüssen von Ludwig u. A. (Lindau, Krüger) vorgefundenen Organismen Abstand genommen werden. Erwähnt mag nur noch sein, daß Ludwig speziell die schwarzen Schleimflüsse für spätere Stadien anderer hielt.

Im Jahre 1889 erschien im Centralbl. f. Bakt. etc. eine kurze Abhandlung von Prof. Dr. E. Ch. Hansen (1), Kopenhagen, über die in dem Schleimflusse lebender Bäume beobachteten Mikroorganismen, in welcher der Verf. teils die von Ludwig aufgestellten Behauptungen einer kritischen Betrachtung unterzieht, teils die Resultate eigener Beobachtungen und Untersuchungen veröffentlicht. Da dieselben in vieler Hinsicht nicht mit den von Ludwig angestellten übereinstimmen, so ist es notwendig, näher auf sie einzugehen.

Hansen traf im Jahre 1886 zuerst einen Schleimfluß in der Nähe von Kopenhagen an, derselbe hatte das charakteristische Aussehen, wie es Ludwig beschreibt, auch wurden die von Ludwig aufgeführten Organismen darin vorgefunden (es fehlte nur die Ascusfruktifikation des *Endomyces*), außerdem aber noch verschiedene andere Pilz- und Bakterienarten (*Penicillium glaucum*, *Torula*-Arten, *Saccharomyces apiculatus*), der Fluß hörte beim Eintreten des Winters auf. Keine der ziemlich zahlreichen Eichen in der Nähe des kranken Baumes wies eine Spur der Krankheit auf. Hansen fand in der Folge trotz eifrigen Suchens nur noch 3 Eichen mit Schleimerguß in der Umgebung Kopenhagens. Dieser Umstand ist für ihn ein Zeichen dafür, daß die Krankheit am letzterwähnten Orte keine große Verbreitung besitzt, und bei Eichen wenigstens nicht sehr ansteckend sein kann. Die vorhandenen Organismen waren im wesentlichen dieselben wie im ersten Falle, es fehlte indessen das *Oidium* sowie der citronenförmige *Saccharomyces*. Ziemlich allgemein verbreitet fand dagegen Hansen diese Krankheit (er hält offenbar beide Erscheinungen bei Eiche und Ulme für pathologisch gleichwertig) bei der Ulme, seltener bei Roßkastanie und Linde. Aus der näheren Beschreibung dieser Baumflüsse geht hervor, daß hier Ludwig's brauner Schleimfluß vorliegt. Hansen beobachtete manchmal die Bildung eines weißlichen Schleimes, wie auch Ludwig später konstatieren konnte, desgleichen das Vorhandensein von Gärungsschaum, letzterer war aber nur von äußerst kurzer Dauer, denn am Tage darauf fand Hansen den Fluß wieder von gewöhnlichem Aussehen. Im September hatten sich gelbliche und weißliche, knorpelartige Brocken gebildet, die große Ähnlichkeit mit den entsprechenden Bildungen an den Ludwig'schen Eichen besaßen. Auch an den Schleimflüssen anderer Bäume beobachtete Hansen vorübergehende Gärungserscheinungen. Sämtliche Schleimflüsse dauerten vom Frühjahr bis Herbst (oft bis

in den Dezember hinein). Auch hier konnten zahlreiche Pilz- und Bakterienarten konstatiert werden.

Hansen kommt zu dem Schlusse, daß die von Ludwig angegebenen Mikroorganismen nicht als Urheber der Krankheit betrachtet werden könnten. Denn sie traten in den 17 untersuchten Fällen nur 1mal auf, während doch von einem Krankheitserreger konstantes Auftreten hätte erwartet werden sollen. Auch von den anderen beobachteten Mikroorganismen fand sich keiner in solcher Menge und Häufigkeit vor, daß Rückschlüsse auf die Urheberschaft gemacht werden könnten. Hansen spricht daher die Vermutung aus, daß das Endresultat möglicherweise durch das Zusammenwirken mehrerer hervorgerufen wird und daß die Annahme berechtigt sei, daß das verschiedene Aussehen der Baumflüsse sowohl durch Veränderungen betreffs der wirkenden Arten als deren Mengenverhältnisse bedingt werde. Hansen glaubt, daß auf dem bis dahin verfolgten Wege der Untersuchung das Ziel nicht zu erreichen sei, und schlägt deshalb vor, durch Infektionsversuche eine Aufklärung der fraglichen Erscheinungen zu erstreben. Nach Analogie der amerikanischen Pear-blight-Krankheit, welche eine Aehnlichkeit mit der hier in Rede stehenden besitzt und bei der Mikrokokken als Krankheitserreger gefunden wurden, hält Hansen es für geraten, bei den Versuchen von den Bakterien auszugehen.

Im Gegensatz zu vorstehenden Ausführungen Hansen's betont Ludwig (7) nochmals die weite Verbreitung der Eichenkrankheit in Deutschland, wovon ihn Mitteilungen und Zusendungen aus den verschiedensten Gegenden sowie eigene 5-jährige Beobachtungen überzeugt hätten. Er begegnet der Ansicht Hansen's, daß es sich sowohl bezüglich der Eichenflüsse als der braunen Flüsse der Apfelbäume, Ulmen, Linden etc. um ein und dieselbe Krankheit handle, und hebt nochmals das Charakteristische der Eichenkrankheit, die übrigens in ganz typischer Weise, wenn auch nur sporadisch, an Pappeln und Weiden auftrete, hervor. Erstens nämlich ihr späteres Erscheinen (zur Zeit der ersten Blüte von *Sorbus Aucuparia* etc.), zweitens hätten die Gärstellen (auch da, wo die Schaummassen noch nicht ausgebrochen oder bereits vertrocknet sind) einen deutlichen Biergeruch, später nach Apfeläther und Essig, während die Schleimflüsse der Apfelbäume einen Geruch nach ranziger Butter besäßen. Drittens seien die charakteristischen Elemente der Eichengärung stets die *Oidium*-Form des *Endomyces Magnusii* und die von Ludwig beschriebene citronenförmige Eichenhefe. Im Schleim dagegen sei der gallertige, froschlauchartige *Leucostoc* Hauptbestandteil neben den Resten von *Saccharomyces* und *Endomyces*, die stets vorhanden seien. Er selbst habe bei 50 Eichen immer mit dem gleichen Ergebnisse untersucht, und auch die von anderer Seite gemachten Beobachtungen (Dr. Dietel untersuchte 5 Weiden, 2 Eichen) stimmten mit den seinigen überein. Aus Hansen's Mitteilungen gehe übrigens hervor, daß er die typische Eichengärung, wie sie in Deutschland auftritt, überhaupt nicht oder in einzelnen Fällen nur in späteren Stadien vor sich gehabt habe. Als Belege für die

infektiöse Natur der Krankheit (Verbreitung von Baum zu Baum) führt Ludwig eine Reihe von ihm selbst gemachter Beobachtungen an: Die Verbreitung der Krankheit und die Art ihrer Ausbreitung an ein und demselben Orte bewiesen zweifellos die infektiöse Natur derselben. Infektionsversuche, die übrigens bei der hohen Abhängigkeit der Pilze von der Feuchtigkeit der Luft besondere Schwierigkeiten böten, könnten dies nur beweisen.

Zur Bekräftigung seiner früheren Behauptungen veröffentlichte Ludwig später (1893—96) noch eine Reihe weiterer Beobachtungen über die äußere Erscheinung, mikroskopischen Befunde, Wirkung, Art der Ausbreitung der Krankheit. Auf Grund 10-jähriger Erfahrung glaubt Ludwig, feststellen zu können, daß trotz der oft weit um sich greifenden Entblößung der Stämme bis aufs Holz doch nur wenige Eichen ganz zu Grunde gehen. In der Regel äußerten sich die Wirkungen des Rindenschwundes in einer starken Verminderung des Zuwachses der Bäume.

Während meist die Krankheit alljährlich wiederkehrt, sei bei vielen Bäumen ein völliges Vernarben und gänzlich Aufhören des Schleimflusses eingetreten; nach Beobachtungen im Jahre 1894 dagegen muß Ludwig letzteres für zweifelhaft erklären. Denn er fand Mitte Juli starke Eichen mit Gärungsschaum und -schleim bedeckt, die seit 1884 keine Ausbrüche mehr gezeigt hatten. Für das Umsichgreifen der Krankheit glaubt Ludwig deutlichen Beweis in dem Umstande zu ersehen, daß die Zahl der im Krümmthale bei Greiz seit 1884 beobachteten kranken Eichen bis 1893 bedeutend gestiegen war. Die Dimensionen der Schleimflüsse seien auch in den Jahren 1893 und 94 zum Teil wieder beträchtliche gewesen.

Wie ersichtlich, divergieren die von den genannten Forschern angestellten Beobachtungen und Untersuchungen gerade in den wichtigsten Punkten und mußten zu wesentlich verschiedenen Anschauungen bezüglich der Natur und Bedeutung der in Rede stehenden Erscheinungen führen. An letztere knüpfen sich außerdem eine Reihe von Fragen, deren einwandfreie Beantwortung umfangreicheres Beweismaterial erforderte. Eine Nachuntersuchung erschien daher aus verschiedenen Gründen wünschenswert. Die sachgemäße Gliederung dieser Aufgabe läßt sich ohne weiteres von Ludwig's oben citierter Darstellung der Baumflußerscheinungen ableiten. Hiernach ergibt sich als wichtigstes Moment die Untersuchung, ob eine parasitäre Wirkung von Pilzen in der von Ludwig geltend gemachten Art statthat, in zweiter Linie, ob sich die Veränderungen und stofflichen Umsetzungen des Ergusses mit bestimmten Mikroorganismen in Zusammenhang bringen lassen.

Beobachtungen mehr nebensächlicher Art bezüglich äußerlicher Momente sind diesen Untersuchungen zweckmäßig vorauszuschicken.

I. Aeußerliche Beobachtungen.

Im feuchten Frühjahr und Sommer 1898 gehörten die Baumflüsse in der Umgebung von Karlsruhe zu den häufigen Erschei-

nungen und traten besonders an Eiche und Ulme, aber auch nicht selten an Roßkastanien und Tulpenbäumen auf. Meist lagen die von Ludwig und Hansen beschriebenen typischen Ausflüsse vor, in wenigen Fällen boten diese ein bisher noch nicht beobachtetes fremdartiges Aussehen. Gewöhnliche Saftflüsse, die sich in diesem Jahre ebenfalls besonders zahlreich eingestellt hatten, wurden auch in den Kreis der Untersuchung gezogen, weil eventuell zu vermuten war, daß man in ihnen Anfangsstadien der oben erwähnten pathologischen Erscheinungen vor sich hatte. Die Eichenflüsse hatten meist das Aussehen, wie es von Ludwig als zweites (Leucostoc-) Stadium der Eichenkrankheit charakterisiert wird. Es quoll eine schleimig-gallertige Substanz von weißlicher bis gelblichweißer Farbe an einer bestimmten Stelle aus der Borke hervor, in einigen Fällen zeigte diese Substanz oberflächlich mehr schaumige Beschaffenheit. Oefters boten die Ausbrüche das Aussehen gewöhnlicher Saftflüsse, indem sich aus der Ausflußöffnung eine wässrige, fast farblose Flüssigkeit über die geschwärzte Rinde herab ergoß. Hierbei konnte einmal, allerdings nur transitorisch, die Entstehung kleiner Bläschen auf der Flüssigkeit direkt an der Ausflußöffnung wahrgenommen werden; nur in 3 Fällen wurden bei der Eiche Bildungen angetroffen, die mit den später zu besprechenden Schleimflüssen anderer Baumarten einige Ähnlichkeit besaßen, und die bereits von Ludwig beschrieben worden sind. Hier hatte sich an der Ausflußöffnung und einige Zoll abwärts die Rinde bedeckend ein zäher, gelbbrauner, in einem Falle schwarzer Schleim abgelagert, während eine wässrige Flüssigkeit der Oeffnung entquoll.

Die Schleimflüsse der Ulme hatten ungefähr das Aussehen, wie es Ludwig und Hansen übereinstimmend beschreiben. Schaumbildung ward allerdings nirgends angetroffen. Auch hier mußte auffallen, daß der entstandene Schleim in nächster Nähe der Ausflußstelle von einer wässrigen Flüssigkeit überzogen war, so daß es den Anschein gewann, als bildeten die Schleimmassen gewisse Absätze sekundärer Umwandlungsprodukte der in dem Baumsafte herbeigeführten gelösten Stoffe.

Die Ausflüsse des Tulpenbaumes waren von dunkel braunschwarzer Farbe; in Bezug auf ihre sonstige Beschaffenheit zeigten sie große Ähnlichkeit mit den oben beschriebenen Flüssen der Ulme. Die Ausbrüche der Roßkastanie endlich boten ein wesentlich anderes Aussehen. Der Ausflußöffnung entströmte eine wässrige Flüssigkeit, während sich weiter unten ein zäher, grauer, häutiger, an manchen Stellen rotgelb gefärbter Schleim gebildet hatte.

Was die Dimensionen betrifft, in denen all die erwähnten Erscheinungen auftraten, so herrschten hier die größten Verschiedenheiten. Während in vielen Fällen der Saft- bzw. Schleimerguß sozusagen auf ein Minimum beschränkt blieb, floß in anderen ein oft mehrere Zoll breiter Strom meterweit die Rinde herab. Solche enorm starke Ergüsse wurden hauptsächlich bei Eiche und Ulme beobachtet. Aenderungen in der Intensität des Ausfließens wurden

des öfteren wahrgenommen und mußten natürlich besonders bei den relativ schwachen Ausflüssen auffallen. Hier hörte das Ausfließen bisweilen gänzlich auf, was notwendigerweise zur Eintrocknung der bereits gebildeten Schleimmassen führte. Offenbar steht diese Erscheinung mit der Witterung im engsten Zusammenhange, worauf schon Ludwig wiederholt hinwies; wir werden später noch auf diesen Punkt zurückzukommen haben.

Niemals wurde indessen beobachtet, daß eine Erscheinungsform in die andere übergang oder zusammen mit einer anderen auftrat etwa in der Weise, wie dies Ludwig beschreibt (Uebergang des Alkoholgärungsschaumes in Schleim). Das Gesamtbild, welches jeder einzelne Ausfluß bot, änderte sich nirgends wesentlich im Laufe der Saison. Die weißen Schleimflüsse der Eiche, die ja nach Ludwig das zweite Stadium der Eichenkrankheit bilden sollen, traten ebenso plötzlich und unvermittelt auf als die anderen Baumflußarten. Trotz täglicher Beobachtung konnte ein Anfangsstadium nicht entdeckt werden; eines Morgens fanden sich an verschiedenen Eichen, die vorher noch keine Spur eines Ausflusses erkennen ließen, weiße Schleimmassen vor, und war im Verlaufe der Zeit weiter nichts als eine Vermehrung an diesen zu konstatieren.

Mit einer Ausnahme, in welcher ein weißer Schleimfluß an einem etwa armdicken Eichenaste gefunden wurde, traten die Baumflüsse immer am Stamme auf, und zwar lagen die Ausflußstellen meist am unteren Teile desselben, bis etwa zu 5 m Höhe; seltener konnte man Ergüsse in den oberen, der Krone nahe gelegenen Stammteilen wahrnehmen. Oefters kam es vor, daß ein und derselbe Baum 2, 3 und mehr Ausbrüche zeigte, die manchmal sehr nahe neben- bzw. übereinander lagen.

Der Zeitpunkt des ersten Auftretens dieser Erscheinungen fiel bei der Eiche ungefähr in die Mitte des Monats Mai. Nicht wenige Ausbrüche begannen aber erst Anfang Juni. Sämtliche hatten in der ersten Hälfte des August zu fließen aufgehört und trockneten allmählich ein. Einige Male hatte das Eintrocknen aber schon Mitte Juli stattgefunden. Nur in wenigen Fällen und zwar bei relativ schwachen Ausflüssen wurde ein abermaliges Hervorbrechen nach bereits erfolgter Eintrocknung beobachtet; hier konnte sonach der Ausfluß nur von sehr geringer Dauer sein.

Im Gegensatz hierzu blieben die Ausbrüche bei der Ulme, der Roßkastanie und dem Tulpenbaum im allgemeinen die ganze Vegetationsperiode hindurch in Thätigkeit, ja oft noch über dieselbe hinaus; mit Beginn im Februar, März flossen sie oft bis in den Dezember hinein (Übereinstimmung mit Hansen's Beobachtung). Zeitweiliges Eintrocknen wurde 3mal, bei Liriodendron und Ulme, beobachtet.

Die Ausbruchsstelle trug in vielen Fällen die Spuren stattgehabter mechanischer Verletzung. Bei den beobachteten Ulmen waren es häufig Frostrisse, worunter diese Baumart bekanntermaßen besonders stark zu leiden hat, aber auch öfter Astbruchstellen sowie andere Verletzungen, an denen sich Schleimerguß zeigte, und die infolgedessen als primäre Ursache der letzteren

angesehen werden müssen. Bei *Liriodendron* und Roßkastanie lagen nur Frostrisse und Astbruchstellen vor. In allen Fällen ging die Verletzung bis aufs Holz. Das Alter der Wundstellen mochte öfter ziemlich bedeutend gewesen sein.

Bei den Eichen konnten dagegen nur einigemal Frostrisse, Blitzschläge und eingewachsene Hornäste sowie Bohrlöcher gewisser Insekten (*Cerambyx cerdo* L.) von außen nachgewiesen werden; meist fehlten derartige Anzeichen, welche auf eine stattgefundene mechanische Verletzung der Rinde hindeuteten, vollständig. Der Saft bzw. Schleim ergoß sich aus anscheinend völlig unversehrter Rinde. Daß indessen auch hier stets eine, wenn auch dem Auge äußerlich nicht sichtbare mechanische Verletzung vorliegt, soll späterhin gezeigt werden.

Bei manchen Rotulmen war das Holz an der Wundstelle auf Handbreite und darüber bloßgelegt, der Schleim quoll zwischen Ueberwallungswulst und Holzkörper hervor. Die Entblößung war in allen Fällen zweifellos eine Folge der ursprünglichen mechanischen Verletzung. Nirgends waren Anzeichen vorhanden, die auf eine Rinden- bzw. Holz-zerstörende Wirkung des Schleimflusses hindeuteten. War der Holzkörper angegriffen, so lagen die gewöhnlichen Fäulnisprozesse vor, wie sie unter dem Einflusse gewisser Faktoren regelmäßig einzutreten pflegen, und deren Mitarbeit an der Holzzerstörung von Ludwig auch ausdrücklich hervorgehoben wird. Auch bei der Eiche und den übrigen Holzarten lagen die Dinge nicht anders. Bei erstgenannter Holzart war an noch nicht geschlossenen Wundstellen die von Ludwig als Merkmal der zerstörenden Wirkung der Alkoholgärung und des Schleimflusses angegebene Rindenzerfaserung an den Wundrändern in geringem Umfange wahrzunehmen, es lag aber kein Grund vor, darin etwas anderes als die Begleiterscheinung der mechanischen Verletzung zu erblicken, denn solche Rindenzerfaserung konnte auch an denjenigen Wundstellen häufig beobachtet werden, an denen Alkoholgärung oder Schleimfluß nachweisbar nicht stattgefunden hat; sie wird offenbar durch den Bau der Eichenrinde einerseits sowie die Art der Verletzung andererseits bedingt.

Das Alter der Bäume, an denen Schleimflüsse auftraten, war in den meisten Fällen ein recht beträchtliches; die untersuchten Eichen waren wohl zum größten Teil mehrere Hundert Jahre alt. Die Ulmen und Tulpenbäume mochten wohl in den meisten der zur Beobachtung gelangten Fällen 120—150 Jahre aufzuweisen haben, während die Roßkastanien wohl höchstens 50—70 Jahre zählten.

Die Eichen standen fast sämtlich in Anlagen in der Umgebung von Karlsruhe oder wie die Ulmen und Tulpenbäume, sowie die Roßkastanien an Straßen bzw. Alleen und zwar an Orten, die im allgemeinen der Sonne wenig ausgesetzt waren. Im geschlossenen Waldbestande konnte die Krankheit, wenn von einer solchen überhaupt geredet werden darf, trotz eifrigsten Suchens bei der Eiche nicht gefunden werden, bei der Ulme ward sie nur einmal an solchem Orte angetroffen.

Ihrem hohen Alter entsprechend war der Gesundheitszustand der Eichen im allgemeinen kein guter; hierfür bildeten allein schon die zahlreichen Dürnräste, welche die Krone dieser Bäume überragten, ein untrügliches Wahrzeichen.

Viele Stämme zeigten noch dazu zahlreiche Bohrlöcher von *Cerambyx* und anderen Insekten oder die bekannten Spechtlöcher, alles Merkmale, die auf eine starke Affektion von Seiten gewisser Insekten schließen lassen. Die Ungunst der Lage, des Klimas und der Bodenbeschaffenheit für die Eiche an den aufgeführten Orten mag gewiß das Ihrige dazu beitragen, die Resistenz der Bäume den verschiedensten Angriffen gegenüber zu schwächen, auch bei der Ulme macht sich dieser nachteilige Einfluß in hohem Maße geltend, weshalb sie leicht gewissen Insekten (*Scolytus scolytus* F.) zum Opfer fällt. Ähnlich verhält es sich auch mit der Roßkastanie, allerdings sind es hier weniger Insekten als andere schädliche Einflüsse, welche ein frühzeitiges Absterben verursachen. Die Folgen der verringerten Widerstandskraft, hervorgerufen durch die oben aufgeführten Momente, werden vor allem in einer Verminderung des Ausheilungsvermögens sich fühlbar machen. Wunden, selbst unbedeutende, schließen sich nur langsam, eine Thatsache, die offenbar zum Auftreten der Baumflußerscheinungen in hohem Maße beitragen muß.

Was die Häufigkeit des Vorkommens, die Verbreitung der Baumflüsse innerhalb eines bestimmten Revieres anlangt, so verdient hervorgehoben zu werden, daß, wie oben schon angedeutet, im geschlossenen Waldbestande, wo die Gesundheit der Bäume nichts zu wünschen übrig läßt, diese Erscheinungen nur sehr sporadisch auftreten, daß dagegen, namentlich an solchen Orten, wo die Bäume unter ungünstigen Wachstumsverhältnissen ein abnorm hohes Alter erreichen, die Baumflüsse zu den häufigen Erscheinungen gehören, sich oft an fast sämtlichen Bäumen eines Reviers zeigen, da ja hier die Vorbedingungen für ihr Auftreten meist in vollem Maße erfüllt sind. Der unmittelbare Zusammenhang der Häufigkeit des Auftretens der Baumflüsse mit dem Gesundheitszustande der Bäume wird angesichts obiger Thatsachen wohl kaum mehr in Abrede gestellt werden können.

Früher wurde schon kurz darauf hingewiesen, daß in dem Auftreten der Baumflüsse gewisse Beziehungen zur Witterung unverkennbar sind. Es kommt dies zum Ausdruck in dem Umfange des monatlichen sowohl im einzelnen als des jährlichen Auftretens dieser Erscheinungen im ganzen. Die Thatsache, daß die Baumflüsse im Jahre 1898 so reichlich, im Jahre 1899 dagegen so gut wie gar nicht zum Vorschein kamen, finden nur in den Witterungsdifferenzen dieser beiden Jahre eine einigermaßen vernünftige Erklärung, indem nämlich länger andauernde Trockenheit das Auftreten des Phänomens in negativem, feuchte Witterung dagegen in positivem Sinne zu beeinflussen scheint, wir konnten in dieser Hinsicht Ludwig's Vermutungen nur bestätigen.

Die Monate Februar bis einschließlich Juli des Jahres 1898 waren im ganzen trüb und ungewöhnlich reich an Niederschlägen,

erst der August trug den Charakter eines wirklichen Sommermonats, indem er überaus heißes und trockenes Wetter brachte. Die Folge hiervon war ein auffallend rasches Verschwinden der vorher zahlreich vorhandenen Baumflüsse. Im Jahre 1899 trug die Witterung ein wesentlich anderes Gepräge, indem länger andauernde Trockenperioden mit feuchtem Wetter fast regelmäßig abwechselten. Der Februar war zum Teil überaus warm, der März sehr trocken, April kühl und ungewöhnlich naß, Mai zu Beginn und Schluß kalt, die dazwischen liegende Zeit dagegen sehr warm. Die erste Hälfte des Juni war sehr warm und trocken, die zweite kühl und regnerisch, zwei Drittel des Juli sowie der ganze August heiß und trocken. Offenbar waren die zwischenliegenden Perioden feuchter Witterung nicht ausreichend, um das Zustandekommen der Ausflußerscheinungen zu ermöglichen.

II. Untersuchung des Rindengewebes.

Die Hauptaufgabe vorliegender Arbeit war die Entscheidung der Frage, ob in den von Ludwig beschriebenen pathogenen Erscheinungen echte Pilzkrankheiten wirklich vorliegen oder nicht.

Der Beweis für die Existenz einer solchen Pilzkrankheit läßt sich natürlich nur im Zusammenhang mit der Frage nach ihrer Wirkung erbringen. Ludwig hat sich hierbei lediglich von äußerlich wahrnehmbaren Momenten leiten lassen, indem für ihn die Art des Auftretens der Erscheinung, die Zerkleinerung der Rinde an den Wundrändern (speziell bei der Eiche), untrügliche Wahrzeichen des parasitären Charakters der von ihm beobachteten Baumflüsse bilden. Derartige Thatsachen lassen aber, wiewohl allgemein zugegeben werden muß, selbst beim konstantesten Auftreten, welches letzteres nach unseren Beobachtungen nicht zu existieren scheint, namentlich im Hinblick auf die primäre mechanische Verletzung noch andere Erklärungen zu, sie können daher unmöglich allein die Unterlage für eine wissenschaftlich unantastbare Argumentierung liefern. Von einer solchen muß vielmehr unbedingt gefordert werden, daß sie uns die Art der parasitären Pilzwirkung durch Gewebeuntersuchungen, womöglich an der Hand von Abbildungen zeigt. Hierüber finden wir indessen bei Ludwig gar nichts, er überläßt es ganz dem Leser, sich eine Vorstellung von der Art der von ihm angenommenen subcorticalen Pilzwucherung zu machen. Was letztere anbetrifft, so scheint uns die Annahme einer Gewebeerstörung als Folge der mechanischen Wirkungen der Vergärung des in die verwundeten Gewebe eintretenden Baumsaftes allein nicht einleuchtend, hiergegen wüßten sich die Gewebe der Rinde wohl zu schützen; es müßte vielmehr entweder eine unmittelbare (durch Eindringen von Hyphen oder Haustorien) oder eine mittelbare (durch Ausscheidung von Giften oder Cellulose auflösenden Fermenten, wodurch der Bildung von Wundkork entgegengewirkt wird) aggressive Thätigkeit der parasitischen Pilze zur Erklärung unterstellt werden; daß für Bakterien nur letzteres Verhalten in Betracht käme, liegt auf der Hand. Es

ist indessen ein solches für diese Organismen bis jetzt noch nicht mit Sicherheit nachgewiesen, wenigstens was Pflanzenkrankheiten anlangt. Wir erinnern hierbei an das, was Alfred Fischer¹⁾ (I. p. 132) über diesen Gegenstand sagt: „Daß in kranken Pflanzen sich Bakterien oft in Unmenge finden, ist sicher, sie haben sich aber hier stets nur metatroph auf dem durch echte Pilze zerklüfteten und zersetzten Gewebe angesiedelt und helfen nun allerdings an dem weiteren Zerstörungswerk, können auch dem weiteren Verlaufe der Krankheit ein besonderes Gepräge verleihen.“ Fischer's Behauptung stützt sich eben auf die Thatsache, daß es bis jetzt an exakten Beweisen für die Existenz bakterieller Pflanzenkrankheiten vollständig fehlt, es gilt dies für die schon lange bekannte berüchtigte Pear-blight-Krankheit Nordamerikas ebensogut als für die Ludwig'schen Baumflußkrankheiten, bei denen *Leuconostoc Lagerheimii* bzw. *Micrococcus dendroparthus* Erreger sein sollen.

Mögen nun in unserem Falle, einer vorläufigen vermutungsweise Annahme entsprechend, die von Ludwig beobachteten Rindenzerstörungen von Bakterien oder Pilzen ausgehen, vor allen Dingen müßten diese Zerstörungen der Gewebe mikroskopisch zu erkennen sein, sei es an dem Zustand dieser letzteren, sei es an den in denselben vorhandenen Resten der Parasiten. Wir bemühten uns vergebens, eines dieser Kriterien aufzufinden.

Die einschlägigen Untersuchungen wurden ausschließlich an Eichen, meist von beträchtlichem Alter, vorgenommen. Wir wählten hierbei hauptsächlich solche Stellen zur Gewinnung des Materials aus, an denen sehr starke und umfangreiche Ausbrüche stattgefunden, wo wir keinen Augenblick darüber im Zweifel sein konnten, die von Ludwig beschriebene Erscheinung vor uns zu haben, auch mehrere an ein und demselben Baume dicht beisammen gelegene Ausbruchsstellen kamen in Untersuchung, hier hatten die früher erwähnten schleimig-schaumigen Ausbrüche stattgefunden. Ueberall hatte die mikroskopische Untersuchung des Schleimes das Vorhandensein des Ludwig'schen *Oidium*s ergeben.

An den bezeichneten Stellen wurde vermittelst eines Meißels die dickborkige Rinde um die Ausflußstelle herum in ziemlich weitem Umfang bis aufs Holz entfernt und teils trocken, teils in Alkohol zur späteren Untersuchung aufbewahrt. Das nach Hingewnahme des Rindenstückes zu Tage getretene Holz zeigte sich vollkommen gesund. Von Wichtigkeit war die Thatsache, daß sich auch an den nahe bei einander gelegenen Ausbruchsstellen nunmehr nach Entfernung der Rinde überall die primäre Ursache des Ausflusses in Gestalt einer mechanischen Verletzung konstatieren ließ, eine Entdeckung, die Ludwig's Vermutung bezüglich des Eintretens „spontaner Ausbrüche“ als Folge der subcorticalen Thätigkeit von *Endomyces* bzw. *Leuconostoc* illusorisch machen mußte.

1) Man vergleiche auch in gegenwärtiger Zeitschrift die hierüber entstandene Kontroverse zwischen Erwin F. Smith und Alfred Fischer. (Dies. Centralbl. II. Abt. 1899. p. 279 ff.)

Gewöhnlich waren eingewachsene Hornäste oft von sehr geringer Größe, dann aber auch der Fraß von *Cerambyx* Ursache der Verletzung. Die Rinde war oft auf große Strecken hin durch genanntes Insekt unterwühlt.

Die anatomische Untersuchung des Rindengewebes im Umkreis der Ausbruchsstelle sollte die Beantwortung der Frage entscheiden, ob irgendwelche Pilzelemente in die lebenden Zellen der Rinde, des Bastes und Cambiums eindringen und dort ihre zerstörende Wirkung ausüben oder nicht.

Um dies zu untersuchen, wurde das betreffende Rindenstück an der von innen deutlich sichtbaren Wundstelle durchschnitten in der Längs-, sodann in der Querrichtung. An den die Wundstelle begrenzenden Schnittflächen wurden mit dem Rasiermesser Quer- bzw. Längsschnitte angefertigt, teils nach Gram'scher, teils nach anderen Methoden tingiert und alsdann serienweise unter dem Mikroskope untersucht. Es zeigte sich, daß in keinem Falle das Rindengewebe abnormes Aussehen besaß. Wohl waren die dicht an die Wundstellen angrenzenden Zellen abgestorben, es schien indessen keine Ursache vorhanden zu sein, den Grund dieses Absterbens mit irgend einer anderen Erscheinung als mit der stattgehabten mechanischen Verletzung in Zusammenhang zu bringen. Pilze, Bakterien oder deren Reste waren nirgends nachzuweisen. Im übrigen wurde das Gewebe vollständig gesund gefunden.

Unser Ergebnis ist in doppelter Beziehung wichtig. Erstens zeigte sich, daß eine Pilzwucherung im Sinne der von Ludwig gegebenen Beschreibung der Eichenkrankheit in den untersuchten Fällen nicht stattgefunden, und zweitens konnte zugleich festgestellt werden, daß spontane Ausbrüche etwa als Folge einer subcorticalen Pilzthätigkeit nicht existierten, indem nämlich auch bei solchen Ausbruchsstellen, die von außen keine Merkmale einer ursprünglichen mechanischen Verletzung erkennen ließen, nach Entfernung der Rinde die Ausflußursache stets in Gestalt einer solchen Verletzung sichtbar ward.

Eine Verallgemeinerung der aus den vorstehenden Untersuchungen abgeleiteten Resultate erscheint uns wenigstens bezüglich der von uns beobachteten Ausflüsse der Eiche unbedingt berechtigt, es erhebt sich nur die Frage, ob dies auch auf die Ludwig'schen Fälle ausgedehnt werden kann. Man könnte nämlich versucht sein, wie es auch Ludwig Hansen gegenüber gethan hat, den Einwand zu erheben, daß nicht die typischen Erscheinungen zur Untersuchung vorgelegen haben. Dem läßt sich entgegenhalten, daß, im Falle überhaupt Pilzkrankheiten, wie sie Ludwig annimmt, existierten, dieselben unter sonst im allgemeinen gleichen Umständen denselben Verlauf und die nämliche Wirkung zeigen müßten, denn es gäbe keinen Grund einzusehen, weshalb die Parasiten, wenn sie einmal da sind, im einen Falle in die Gewebe eindringen sollten, im anderen nicht. Daß sowohl in den von Ludwig als den von uns beobachteten Fällen die gleichen Vorbedingungen gegeben waren, erscheint uns zweifellos. Infolgedessen

sind wir zu der Vermutung gezwungen, daß bei den von Ludwig beobachteten Erscheinungen der Alkoholgärung und des Eichen-schleimflusses andere Momente in erster Linie für den Verlauf dieser Phänomene entscheidend gewesen sind und die Zerstörung der Rinde verursacht haben, falls eine solche wirklich eingetreten. Wir möchten letzteres für die meisten Fälle in Zweifel ziehen; hat uns Ludwig doch keine Mitteilungen über den allgemeinen Gesundheitszustand, die Stellung der Bäume etc. gemacht. Aus dem Mangel solcher Mitteilungen müssen wir, wie schon früher erwähnt, schließen, daß derartige Beobachtungen, die doch gewiß von großer Bedeutung gewesen wären, von Ludwig unterlassen wurden, und sehen uns zur Annahme gezwungen, daß in den von Ludwig namhaft gemachten Fällen von Alkoholgärung und Schleimfluß der Eiche die Dinge im allgemeinen auch nicht anders lagen als in den unserigen; daß höchstens die mechanischen Rindenverletzungen, die ja, wie wir nachgewiesen haben, stets als primäre Ursache der Baumflüsse zu konstatieren sind, besonders umfangreiche, abnorme waren, deren Veranlassung sich natürlich nur vermuten läßt (Sonnenrisse, Insektenfraß, Blitzschlag etc.).

Das soeben Erörterte dürfte wohl mit Fug und Recht auch für die übrigen Arten der Baumflüsse, die bei Ulme, Roßkastanie und Tulpenbaum etc. beobachtet wurden, Giltigkeit haben, denn hier liegen die Verhältnisse ja ganz analog.

Schließlich seien der von Ludwig erwähnten Zerstörung des Holzes noch einige Worte gewidmet. Dieselbe soll bei der Ulme besonders, bei der Eiche bisweilen Platz greifen. Nach vorstehenden Untersuchungen dürfte es nicht schwer fallen, diese Behauptungen Ludwig's, für die exakte Beweise ebenfalls fehlen, als grundlos hinzustellen. Die vom braunen Schleimflusse befallenen Ulmen und Apfelbäume besitzen im allgemeinen ein relativ geringes Ausheilungsvermögen, Wunden überwallen daher sehr langsam. Die Folge hiervon ist, daß bei größeren Rindenverletzungen der Holzkörper häufig auf lange Zeit hinaus bloßliegt. Kommt an derartigen Stellen ein Schleimfluß zustande, so dringt derselbe oder scheint vielmehr zwischen Ueberwallungswulst und Holzkörper bezw. aus dem Holze selbst hervorzudringen. Dieses Phänomen hat offenbar Ludwig zu der Behauptung verleitet, der braune Schleimfluß habe seinen Sitz im Holze. Bei genauer Betrachtung und Vergleichung mit solchen Wundstellen, die keinen Schleimerguß zeigen, wird aber ohne weiteres klar, daß der braune Schleimfluß direkt weder mit der Entblößung des Holzes, noch mit eventuellen Fäulnisercheinungen des letzteren, die sich ja häufig an solchen Orten einstellen, etwas zu thun hat. Indirekt vielleicht nur insofern, als er den Fäulniserregern die zu ihrer Entwicklung unentbehrliche Feuchtigkeit liefert, so daß diese ihr Zerstörungswerk am Holze beginnen können. Daß den Fäulniserregern die Hauptrolle bei den Zersetzungserscheinungen des Holzes zufällt, hat, wie wir oben schon mitteilten, selbst Ludwig zugegeben.

Bei der Eiche verhält es sich nicht anders. Dem größeren Ueberwallungsvermögen dieser Baumart entsprechend kommt es

hier in der Regel früher zu einer völligen Schließung der entstandenen Wunden.

Zu einem ähnlichen Schlusse bezüglich des Charakters und der Bedeutung der Schleimflußerscheinungen kommt Karl Freiherr von Tubeuf auf Grund seiner Beobachtungen. Wir lesen p. 164 u. 165:

„Eine sehr häufige Erscheinung unserer Allee- und Park- wie auch einiger Waldbäume ist der sogenannte Schleimfluß.

Man kann ihn während der Vegetationszeit an verschiedenen Holzarten bemerken, und zwar regelmäßig an den Abschnittstellen von Aesten, den Frostleisten der Stämme und auch an anderen Wundstellen. Dieselben sind oftmals so überwallt, daß es den Anschein erweckt, als ob der Schleimfluß aus der unverletzten Rinde quelle, was ich selbst niemals beobachtet habe. Ludwig dagegen beschreibt diesen Fall, wenn auch ohne anzugeben, ob es sich etwa durch einen Querschnitt des Stammes an der Quelle des Schleimflusses nachweisen ließ, daß eine frühere Verwundung ausgeschlossen war.

Da der Schleimfluß jedenfalls an den toten Aststützen und an den Frostleisten sehr häufig ist und nach meinen Beobachtungen auch öfters an hölzernen stehenden Brunnenrohren und Brunnentrögen sich bildete, wo dieselben an einer Spalte Wasser durchsickern ließen; da sich auch an den toten Baumstümpfen solche Schleimflüsse finden, so ist anzunehmen, daß dieselben stets, wenn auch an verborgenen Wundstellen, entstehen. Ich habe ferner keinen Fall beobachtet, in dem ein Baum mit Schleimfluß kränkelte oder abstarb. Es wäre daher möglich, daß die Bäume, deren Absterben Ludwig beobachtete, aus anderen Ursachen erlagen. Bemerkenswert muß ich noch, daß die Ueberwallungsränder von Frostleisten mit Schleimfluß, die ich anschnitt, völlig gesund waren.“

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Entgegnung auf Alfred Fischer's „Antwort“ in betreff der Existenz von durch Bakterien verursachten Pflanzenkrankheiten.

Zweiter Teil.

Von Dr. Erwin F. Smith,

Direktor der pathologischen Laboratorien der Division of Vegetable Physiology and Pathology, U. S. Department of Agriculture, Washington, D.C., U.S.A.

Mit 11 Tafeln.

(Fortsetzung.)

Hier folgt nun ein detaillierter Bericht über verschiedene erfolgreiche Infektionen mit Reinkulturen, die stets durch mikroskopische Beobachtungen kontrolliert wurden. Aus dem Innern

dieser erkrankten Pflanzen wurde derselbe Organismus wieder in Reinkulturen erhalten, von welchen wieder erfolgreiche Infektionen ausgeführt wurden. Diese Beobachtungen fertigt Fischer mit den Worten ab:

„Sowohl die *Pseudomonas campestris* als auch den *Bacillus tracheiphilus* hat Smith angeblich noch durch Einstiche in die Blätter mit Erfolg eingepflanzt; in beiden Fällen vermisse ich, daß durch mikroskopische Beobachtung die eingepflanzten Bakterien auf ihrem Wege verfolgt worden sind.“

Ich habe Hunderte von sorgfältigen mikroskopischen Untersuchungen ausgeführt sowohl bei natürlich erkrankten Pflanzen als bei künstlich infizierten, und die ausführliche Schilderung in meinen Mitteilungen macht dieses ganz klar. Fischer's Bemerkung ist daher vollständig unberechtigt. Bei weißen Rüben, welche ich durch feine Nadelstiche in die Blätter mit *Pseudomonas campestris* infizierte, schritt die Krankheit ebenfalls ganz typisch dem Gefäßbündelsystem entlang fort bis in das Innere der Wurzeln. Hierüber sagte ich:

„A microscopic examination showed the inner browned tissues of the roots to be swarming with bacteria and no fungi were to be seen. Finally from the decayed interior of these roots I succeeded in isolating the yellow germ in great numbers and apparently there was nothing else present [d. h. sonst nichts wurde auf den Plattenkulturen gefunden]. These turnip roots were dwarfed, but white and sound externally.“ An anderer Stelle derselben Mitteilung sagte ich über die Kohlpflanzen:

„In case of stem inoculations the first distinct sign was internal browning in the vicinity of the punctures. Subsequently the leaves above the pricked area or at its sides became more or less flabby and yellow with brown veins as shown in Fig. 5 and finally disarticulated and fell off. A cross section of the petiole of such leaves (Fig. 6) always showed a deep brown stain in the bundles and whenever microscopic examination was made the vessels were seen to have brown walls and to be full of bacteria.“

Ueber eine Gurkenpflanze, welche ich mit einer Reinkultur von *Bacillus tracheiphilus* infizierte und welche nachher erkrankte, sagte ich:

„Stengelparenchym unbeschädigt. Milchweiße Tropfen, welche aus den bloßgelegten Gefäßenden hervorquellen, schienen bei Vergrößerung nur mit Bacillen angefüllt zu sein. Pilze [Fungi] sind nicht vorhanden.“

Aus dem Innern dieser Pflanze entnommene Mikroben wurden in eine andere Pflanze geimpft, daraus wieder nach Eintritt der Krankheit isoliert und dann nach nahezu 3-monatlicher Züchtung in eine dritte Gurkenpflanze eingepflanzt, wobei die ersten Symptome nach 6 Tagen eintraten. Hierüber sagte ich:

„14 Tage nach der Impfung zeigten sich die Gefäße der noch

grünen Ranke mit Bacillen verstopft. Die Bacillen waren teilweise beweglich etc.“

Wie konnte ich diese Bemerkungen machen, ohne zuerst eine sorgfältige mikroskopische Untersuchung anzustellen, welche ja durch jene bedingungslos vorausgesetzt wird? Der aus diesen letzteren Pflanzen isolierte Organismus wurde nach Züchtung auf mehreren Medien in 8 Melonen-Pflanzen eingepflanzt (man sehe Tafel I dieser Mitteilung, welche die Photographie einer ähnlichen Melonenpflanze enthält, welche aber das folgende Jahr infiziert wurde). 6 von diesen Pflanzen zeigten die nun wohl erkannten krankhaften Symptome am 5. Tag, eine am 8. und eine am 9. Ich sagte auch:

„Die Impfung fand übereinstimmend in der Blattspreite statt, und war auch der Gang der Zerstörung in allen Fällen derselbe, mit einer Verwelkung der Impfstelle beginnend und von allen charakteristischen anatomisch-pathologischen Merkmalen begleitet.“

Aus diesen Worten geht doch klar und deutlich hervor, daß ich diese 8 Pflanzen genau beobachtete und schließlich von einer jeden eine mikroskopische Prüfung vornahm. Darüber kann doch gar kein Zweifel sein. Schließlich wurde eine andere Melonenpflanze direkt mit der bakterienhaltigen Flüssigkeit aus dem Innern eines der erkrankten Pflanzen infiziert, worüber ich sagte:

„Am 9. Tage waren am geimpften Blatte die ersten Symptome bemerkbar. Am 10. Tage, als die geimpfte Spreite völlig verwelkt war, zeigten sich bei mikroskopischer Untersuchung der Pflanze die Gefäße des unteren Teiles des Blattstieles sowohl als auch die der benachbarten Stammteile mit großen Mengen von Bacillen angefüllt, wovon die Mehrzahl deutliche Eigenbewegung besaß.“

Und da sagt Fischer noch: „In beiden Fällen vermisse ich, daß durch mikroskopische Beobachtung die eingepflanzten Bakterien auf ihrem Wege verfolgt worden sind.“

Ueber die Kohlkrankheit sagte ich weiter: „The inoculated stems or leaves frequently showed no signs of disease for a week or two, and never any unless living bacteria of this yellow sort were introduced. Punctures with a sterile needle never resulted in any disease.“ Von den Kontrollpflanzen sagte ich: „As usual in all experiments of this kind several hundred check plants were grown for purposes of comparison etc.“ „All of these plants were in the same greenhouse and on the same bench as the inoculated plants some of them close by and the remotest not more than 3 to 5 meters distant. During the four months in which I have been making inoculations, only one of these check plants has contracted the disease. This plant stood close to a dozen inoculated ones, so that its leaves touched or nearly touched the infected plants, and the infection was probably conveyed by slugs, the slimy traces of

which were observed on its leaves some days before the symptoms appeared.“

Diese Pflanze wurde durch die Wasserporen infiziert und von ihr habe ich jetzt noch in Alkohol den Stengel, welcher bei gesundem Mark und gesunder Rinde den schwarzen Gefäßbündelring erfüllt mit Bakterien zeigt.

Ueber die Gurkenkrankheit sagte ich: „Zum Beweise, daß die oben beschriebenen Resultate durchaus nur von den Infektionen herrührten, möge hier angeführt werden, daß nicht eine einzige Kontrollpflanze während der ganzen 5 Monate erkrankte.“

Bei solchen Konstatierungen macht Fischer die folgende Bemerkung: „Denn von den Impfstellen ausgehende Bräunung der Gefäße oder daran sich anschließende welke Flecken allein genügen doch nicht, sie können doch einfache Folgen der Impfverletzung sein.“

Diese Aeußerung ist aber ganz unberechtigt, denn ich habe diese Symptome nicht als das einzige Charakteristikum angegeben. Immerhin möchte ich Fischer vorschlagen, einige Versuche mit Kohl und Gurken auszuführen, anstatt Vermutungen auszusprechen, und er wird dann finden, daß einige bloße Nadelstiche, in der von mir befolgten Weise gemacht, weder eine Bräunung, welche sich den Gefäßbündeln entlang beim Kohl ausbreitet, noch ein Abwelken, noch den Tod bei der Gurkenpflanze herbeiführt.

Eine ernstliche mechanische Verletzung würde wohl in 1 oder 2 Stunden resp. Tagen schon das Verwelken der Blätter herbeiführen und nicht gerade am Schluß einer Inkubationsperiode, welche gewöhnlich 6—15 Tage beim *Bacillus tracheiphilus* und 1—3 Wochen bei *Pseudomonas campestris* beansprucht.

Fischer citirt aus meiner Abhandlung über „die Ursache des Verwelkens verschiedener Cucurbitaceen“ das Folgende:

„Die Färbung wollte nicht leicht gelingen, und erst durch Vorbehandlung mit Tanninlösung war es möglich, mit Gentianaviolett zu färben und mit Alkohol so zu differenzieren, daß die Bakterien scharf begrenzt auf einem nur sehr leicht gefärbten Hintergrunde erscheinen.“

Diese aus dem Zusammenhang gerissenen Zeilen könnten leicht den Leser irreführen, da er aus der Schwierigkeit des Färbens schließen konnte, daß es sich hier um etwas anderes als Bakterien handelt. Aber ich sprach hier lediglich über die wohlbekanntere Schwierigkeit, die Bakterien in den Geweben selbst zu färben, wobei das Pflanzengewebe farblos bleiben sollte. Ich sagte hierüber: „Da die Gewebe der Nährpflanzen und namentlich die Gefäßbündel die Färbung besser aufnehmen und festhalten, gelang die Färbung des *Bacillus* in der Nährpflanze erst nach vielen Versuchen. Diese Schwierigkeit wurde dadurch überwunden, u. s. w. Diese Färbung läßt sich nun mit Alkohol aus den verholzten Gefäßen entfernen, ohne die Bacillen zu entfärben, so daß große Mengen derselben scharf begrenzt auf einem nur sehr leicht gefärbten Hintergrunde erscheinen.“ (Vergl. Taf. II Fig. 3 in dieser Mitteilung.)

Weiter sagt er: „Die Bacillen sollen aus bloßgelegten Stammbündeln in milchweißen, mit der Nadel zu 20—40 und mehr cm langen Fäden ausziehbaren Tropfen hervorquellen, die auffällig an die stets aus der Schnittfläche hervortretenden schleimigen Tropfen des Siebröhreninhaltes erinnern. Mit diesen soll man nach Smith's Mahnung die Bakterientropfen ja nicht verwechseln.“

Diese Krankheit, welche jeden Sommer in Gärten bei Washington auftritt und in vielen anderen Teilen der Vereinigten Staaten einheimisch ist, wurde 2 verschiedene Jahre vor meiner Publikation und auch seitdem regelmäßig jedes Jahr sorgfältig studiert. Hierbei wurde eine große Zahl erkrankter Pflanzen in mein Laboratorium gebracht, was mir oft Gelegenheit zu beobachten gab, daß das normale Siebröhrenexsudat ganz unbedeutend ist im Vergleich mit dem Bakterien Schleim aus den erkrankten Gefäßen. Jener ist nicht klebrig, nicht milchig und kann nicht in feine Fäden von 20—40 cm Länge ausgezogen werden. Noch mehr, beim Färben dieser Fäden erkennt man, daß zahlreiche, morphologisch wohlcharakterisierte Bakterien in einen zähen homogenen Schleim eingebettet sind, welcher sich als eine Reinkultur von *Bacillus tracheophilus* erwies. Ich habe viele Kulturen davon hergestellt.

Fischer macht weiterhin die folgende Äußerung: „Auf dunkle Abwege wird die Phantasie des Lesers noch durch die Angabe verlockt: Zu einer Zeit, wo noch alle äußeren Teile des Stengels grün und turgescens erscheinen und noch keine Krankheitserscheinungen sichtbar sind, lösen sich die Gefäßwände auf und es treten an Stelle der Gefäße große, weit in das umgebende dünnwandige und unverholzte Vasalparenchym hineinreichende, mit Bacillen erfüllte Höhlen auf. Trotz solcher angeblichen Zerstörungen im Innern noch keine Krankheitserscheinungen nach außen! Der harmlose Leser denkt hierbei an Thyllen, aber wer wollte so etwas sicher behaupten?“

Es kommt aber bekanntlich doch nicht selten vor, daß bei erheblichen Verletzungen im Innern oft eine Krankheit von außen noch nicht zu erkennen ist. Tuberkulöse Erkrankungen der Lunge oder Leber liefern hierzu ein instruktives Beispiel. Meine Bemerkungen konnten sich doch nur auf den Stengel beziehen, nachdem ich erwähnt hatte, daß die Blätter in dem erwähnten Stadium zu welken und zu schrumpfen anfangen. Der Leser kann sich leicht vergegenwärtigen, was ich ausdrücken wollte, wenn er die nachfolgenden Tafeln besichtigt, z. B. Taf. III und VI. Der von Fischer citierte Satz bezieht sich auf die Anhäufungen von Bakterien in den Spiralgefäßen und auf die Zerstörung des dünnwandigen Parenchyms, welches diese Gefäße umgiebt. Was hatten Thyllen in diesen Geweben zu thun? Sie kommen manchmal in den Tüpfelgefäßen vor als Wachungen durch den Tüpfel, aber ich habe sie niemals in Spiralgefäßen gesehen, welche bekanntlich keine Tüpfel haben. Fischer setzt an Stelle meiner einfachen Erklärungen ganz unmögliche Annahmen.

Es mag sein, daß der Saft der Gefäße nicht alkalisch ist.

Immerhin ist das ein Punkt, welchem hier nur eine Nebenbedeutung zukommt. Sicher ist so viel, daß die Bakterien eine stark saure Reaktion vermeiden und auch viel lieber in den Gefäßen als in den Siebröhren sich anhäufen.

Es bleibt noch eine andere Krankheit zu betrachten übrig, über welche Fischer sagt: „Auch ein dritter von E. Smith erforschter Bacillus, der *Bacillus solanacearum*, der in Tomaten und Kartoffeln Welken des Krautes und Fäulnis bis in die Knollen hinab hervorrufen soll, ist nicht besser untersucht wie die beiden schon besprochenen.“

Da diese Abhandlung über die Kartoffelkrankheit jetzt vergriffen und schwer zu erhalten ist, sei es mir erlaubt, einiges daraus zu übersetzen, um den Lesern zu zeigen, wie die Untersuchungen wirklich ausgeführt wurden, damit sie selbst beurteilen können, welches Gewicht Fischer's Kritik beizumessen ist.

Zuerst beschrieb ich, durch welche Umstände meine Aufmerksamkeit auf die Krankheit gelenkt wurde, hierauf ihr Vorkommen und wie durch mikroskopische Untersuchungen zahlreicher im Feld erkrankter Pflanzen zwei Beobachter (Dr. Halsted und ich) unabhängig voneinander zu dem Schluß kamen, daß die Gewebe mit Bakterien erfüllt und frei von Mycel-Fungi sind. Nach dieser vorläufigen Untersuchung habe ich eingehende bakteriologische Studien ausgeführt. Ueber jene ersten Arbeiten sagte ich folgendes: „Im Mai 1895 wurde eine ausgedehnte Reihe mikroskopischer Beobachtungen, künstlicher Kulturen und Pflanzenimpfungen in den Laboratorien und Treibhäusern des United States Department of Agriculture in Washington begonnen und einige Monate mit sehr viel Erfolg fortgesetzt, wobei ein Organismus ganz verschieden von den des ‚Cucumber wilt‘ erhalten wurde. Dieser Organismus wurde mit zahlreichen positiven Resultaten auf Tomaten und Kartoffelpflanzen überimpft.“

Das Anfangsstadium der Krankheit bei aus Mississippi stammenden Tomatenpflanzen wurde, wie folgt, beschrieben: „Das Laub war erst kurz vorher verwelkt und der Stengel war fest und normal oder nahe so. Auf dem Durchschnitt schienen Mark und Rinde normal, welche gewöhnlich frei von Bakterien waren. Der Holzcylinder oder ein Teil davon war bräunlich geworden und seine Gefäße, obgleich frei von Mycelpilzen, waren mit Myriaden von Bakterien erfüllt. Diese quollen aus den Gefäßen, bald nachdem ein Querschnitt geführt war, in kleinen Tröpfchen von schmutzig-weißem oder gelblich-weißem Aussehen hervor. Diese Tröpfchen waren weder klebrig noch hatten sie einen ausgeprägten Geruch. Es war ausschließlich eine Masse von Bacillen in Form kurzer Stäbchen oft zu zweien vereinigt, mit einer deutlichen Einschnürung dazwischen. Viele davon zeigten schwache Bewegung.“

In Bezug auf die Gegenwart von Bakterien in den Gefäßen wurde ferner gesagt: „Dieser Organismus kommt in den Gefäßen in enormen Mengen vor und kann in den holzigen Teilen der erkrankten Tomatenstengel auf weite Entfernungen hin verfolgt werden, sogar bis beinahe zum Vegetationspunkt hin und in die

Blattstiele hinein. Beim Fortschreiten der Krankheit wird auch das Parenchym angegriffen.“

In betreff der im ersten Jahr ausgeführten Infektionsexperimente sagte ich: „Wiederholte Impfungen, zuerst mit Bacillen direkt aus dem Innern des Stengels bei einem frischen Krankheitsstadium und später mit Reinkulturen in Probierröhren auf schiefer erstarrtem Agar gewachsen, führten zu identischen Resultaten. In den ersten Tagen gewahrte man kein Anzeichen der Erkrankung, ausgenommen eine geringe Schwärzung um die Nadelstiche herum, welche mit kleinen flambierten Stahlnadeln gemacht wurden. Später fand ein leichtes Einschrumpfen des Gewebes mit einer geringen, aber charakteristischen und fortschreitenden Gelbfärbung des Stengels auf der geimpften Seite statt, besonders oberhalb und unterhalb der Stiche. Hierauf folgte, gewöhnlich nach mehreren Wochen (die Tomatenpflanzen waren ausgewachsen und ziemlich holzig) Abwelken des ganzen Laubes der Zweige und Absterben. In einigen Fällen trat dieses Abwelken und Absterben erst nach längerer Zeit ein.“

Jüngere rasch wachsende Pflanzen entwickelten die Krankheit viel rascher als ältere, wie die Experimente des folgenden Jahres zeigten.

Ferner sagte ich in Bezug auf die mikroskopischen Untersuchungen der infizierten Pflanzen: „Eine Untersuchung der Schnitte, welche ich von den geimpften Tomatenpflanzen gleich nach dem Verwelken vornahm, gab Resultate ganz identisch mit denen, welche ich direkt bei den aus Mississippi stammenden frisch erkrankten Proben erhielt, d. h. Abwesenheit des Bacillus im Parenchym, leichte Bräunung des Gefäßbündelringes und Gefäße vollgepropt mit einem Bacillus, welcher auf dem Stammquerschnitt in Form von kleinen, schmutzig-weißen oder sehr schwach gelblichen Tropfen hervordrang. Diese Tropfen waren nicht klebrig . . . und bestanden aus kurzen, oft zu zweien vereinigten und langsam beweglichen Stäbchen.“

Ich fuhr fort: „Dieser Organismus wurde auch auf eine Zahl von kräftigen Kartoffelpflanzen übergeimpft. Das Resultat war sogar noch auffälliger als bei den Tomatenpflanzen. Anfänglich war kein Symptom zu bemerken, aber nach einigen Tagen trat eine leichte Bräunung oder Schwärzung auf und ein Schrumpfen des Stengels in der Nähe der Stiche und in etwa 2 Wochen ein entschiedenes Verwelken des Laubes. Dieses war von einem sehr charakteristischen Wechsel der Farbe des Stengels, d. h. von einem hellen durchscheinenden Grün zu einem matt Schmutzigrün begleitet, worauf ein allmähliches Schrumpfen und Tod des Stengels von oben nach abwärts erfolgte.“

„In den frühen Stadien dieser Kartoffelkrankheit ist der Bacillus auf das Gefäßbündelsystem beschränkt, aber das weiche Parenchym des Markes und der Rinde war bald angegriffen und verzehrt, worauf ein Schrumpfen folgte, da diese Stengel weniger holzig sind und daher weniger resistent als die der Tomatenpflanzen.“

„Diese Kartoffelstengel waren etwa 2 Fuß hoch zur Zeit der Impfung. Die Stiche wurden nahe dem Vegetationspunkt, meist am Stengel, gemacht, aber in einigen Fällen auch nur an einzelnen Blättchen, wobei die Resultate die gleichen waren, ausgenommen, daß die allgemeine Infektion der Pflanze in dem letzten Falle nicht so rasch fortschritt.“

In betreff des Zerfalls in den Knollen, herbeigeführt durch Impfung der Blätter und Stengel mit Reinkulturen dieses Bacillus, sagte ich: „Einige Wochen nach dem Eintritt des Stammwelkens wurde die Erde aus den Töpfen entfernt und die Knollen untersucht. In einer Anzahl von Fällen waren die Knollen verfault, trotzdem kein übermäßiges Begießen stattgefunden hatte. In den weniger angegriffenen und zur Untersuchung geeigneten Knollen war leicht zu erkennen, daß der Bacillus in die Knollen durch das Stengelende eingedrungen war und seinen Angriff auf den Gefäßbündelring und die unmittelbare Nachbarschaft begonnen hatte. Die Schale solcher Knollen war unverletzt und die äußeren Teile der Rinde und nahezu das Ganze der großen centralen Masse des stärkeführenden Parenchym's war noch intakt. Auf einem Querschnitt durch einen solchen Knollen ergab sich eine ganze oder teilweise braune bis schwarze Verfärbung des Gefäßbündelsystems sowie ein Vordringen von Bakterienmassen in Form kleiner Tröpfchen, welche schmutzigweiß bis sehr schwach gelblich waren und weder Klebrigkeit noch besonderen Geruch besaßen. Alle diese Tröpfchen waren nur aus Bacillen zusammengesetzt, worunter einige in Bewegung gesehen wurden. Häufig war nur das Stengelende der Knolle angegriffen und die bräunlichen, mit Bacillen erfüllten Gefäße nahe der Peripherie der Knolle waren durch gesunde Massen von weißem stärkeführenden Parenchym voneinander getrennt. Sehr leicht konnte man hier die Quelle der Infektion von der Knolle bis in die Gefäße des unterirdischen Stammes, welcher den Knollen mit der Mutterpflanze verband, verfolgen und von hier in ununterbrochener Linie bis zum oberen Stengel, wo der Bacillus durch Nadelstiche eingepflanzt wurde. In einem Fall bei verspäteter Ausgrabung war das ganze Innere der Knolle hinweggefault und nur die Haut blieb übrig.“

In demselben Jahr (1895) entdeckte ich dieselbe Krankheit in den Eierpflanzen bei Charleston, S. C. Hierüber äußerte ich mich, wie folgt:

„Beim Durchschneiden des Stengels frisch verwelkter Pflanzen wurde der wohlentwickelte Gefäßbündelring gebräunt gefunden und die Gefäße selbst waren vollgepfropft von Massen eines kurzen beweglichen Bacillus, welche in Form von kleinen, schmutzigweißlich resp. schwach gelblichen Tröpfchen hervorquollen, welche weder klebrig waren noch irgend einen Geruch hatten und welche denen auffallend glichen, die ich auf Querschnitten von frisch verwelkten Tomatenpflanzen beobachtet hatte. Rinde und Mark waren noch nicht angegriffen und keine Mycelfäden waren mit den Bacillen gemischt. Da im Felde Reinkulturen nicht angestellt werden

konnten, wurde die in diesem Stadium der Krankheit aus den Gefäßen hervordringenden Bakterienmassen direkt in kräftige Tomatenpflanzen eingepflegt, und zwar bei zwei verschiedenen Gelegenheiten in einem Garten, wo die Tomatenkrankheit nicht aufgetreten war. Im ganzen wurden 15 Pflanzen eingepflegt. Die Bacillen vermehrten sich nun enorm in diesen Pflanzen und der Verlauf der Krankheit war der gleiche, den ich im Glashause in Washington früher im Sommer beobachtete, als ich infektiöses Material von Tomatenpflanzen aus Mississippi verwendet hatte.“

Im Jahre 1896 wiederholte ich die Versuche von 1895 und stellte eine weitere Untersuchung an, welche die früheren Befunde durchaus bestätigte. Erst dann veröffentlichte ich meine Untersuchung. Betreffs meiner erfolgreichen Versuche 1896 schrieb ich:

„Alle Versuche von 1895 sind nun oft an Tomaten- und Kartoffelpflanzen mit Resultaten, welche weder den geringsten Zweifel über die Existenz einer neuen bakteriellen Krankheit noch über den speziellen Organismus, welcher die Krankheit hervorruft, übrig lassen, wiederholt worden. Die Krankheit wurde wiederholt erzeugt mittelst Reinkulturen, welche von einer einzigen Plattenkolonie erhalten wurden. Ferner wurde aus dem Innern dieser geimpften Pflanzen derselbe Organismus wieder isoliert und damit eine zweite Reihe erfolgreicher Impfungen ausgeführt. Oft haben sich die Bakterienmassen in den geimpften Stengeln als Reinkulturen dieses einzigen Organismus erwiesen. Dieser Bacillus wurde mit Erfolg dann auch in eine Anzahl anderer Solanaceen eingepflegt und sein Verhalten auf verschiedenen Nährmedien studiert.“

Von diesen 1895 und 1896 ausgeführten Untersuchungen sagte ich ferner:

„Keine der vielen Kontrollpflanzen kontrahierte die Krankheit, sogar dann nicht, wenn dieselbe in demselben Topf mit der geimpften Pflanze gezogen wurde, und nichts konnte klarer sein als die Art und Weise der Infektion der Knollen, nämlich durch die Gefäßbündel des Stengels. Im Glashause war die eintretende Fäulnis der Knollen in 3—6 Wochen nach der Infektion des oberirdischen Stengels gut entwickelt, wenn auch die Impfung hoch an der Pflanze stattgefunden hatte.“

Ueber die Zerstörung im Innern der Pflanzen durch diesen Organismus äußerte ich mich:

„Die Stärkekörnchen scheinen durch diesen Organismus nicht angegriffen zu werden¹⁾, auch das verholzte Gewebe wird nicht leicht angegriffen, aber es zerstört das Parenchym des Marks und der Rinde, und indem es auch das Protoplasma zerstört, ver-

1) Dieser Organismus hat offenbar nur sehr schwache diastatische Wirkung.

wandelt er nahezu das ganze Innere weicher Stengel wie die von der Kartoffel oder jungen Tomatenpflanzen in eine wässrige Masse aus zerfallenen Zellen und Bakterien. Bei alten und wohl verholzten Stengeln wie diejenigen ausgewachsener Tomaten- und Eierpflanzen bleibt die äußere Form des Stengels besser erhalten und die Verletzungen sind weniger ausgedehnt. In den Knollen der Kartoffeln erscheinen scharf begrenzte Höhlen in der Nachbarschaft des Gefäßbündelringes, welche braune oder schwarze Wandungen haben und mit zerstreuten Stärkemehlkörnchen, Zellresten und Myriaden von Bakterien erfüllt sind. In der Nachbarschaft dieser Höhlen kann man die Zellen und Zellwände des stärkeführenden Parenchyms in allen Stadien der Zersetzung beobachten.“

Ferner bemerkte ich:

„Diese Krankheit wurde beobachtet in Pflanzungen von Tomaten (*Lycopersicum esculentum*), Kartoffeln (*Solanum tuberosum*) und Eierpflanzen (*S. melongena*). Im Treibhaus wurde sie wiederholt hervorgerufen bei Tomaten- und Kartoffelpflanzen unter scharfer Kontrolle und Anwendung von Reinkulturen, ferner in einer Anzahl von Fällen auch in einigen anderen Gliedern der Solanaceen. Die Impfkulturen wurden 1895 von der Tomatenpflanze gewonnen, während die von 1896 von einer Eierpflanze stammten. Auch *Datura stramonium* erkrankt sehr leicht nach Einimpfung der Bakterien mittels Nadelstichen. Ueberzeugende Fälle wurden 1895 und 1896 erhalten. Die Bakterien vermehren sich ungeheuer in der Pflanze, verbreiten sich in den Stengeln nach abwärts und führen zur Verwelkung der Blätter und Verschrumpfung des Stengels. Teils impfte ich in die Blätter und teils in den Stengel. Auch *Solanum nigrum* entwickelte die Krankheit leicht nach Impfung durch Nadelstiche in die Blattspreite oder den Stengel. Das Laub welkte und die Stengel schrumpften. Auch diese Resultate wurden sowohl 1895 als 1896 erhalten. Bei einer in den oberen Stengel durch einige wenige feine Nadelstiche geimpften Pflanze wurde 2 Wochen nachher das ganze Gefäßbündelsystem in einer Ausdehnung von mehr als 8 Zoll den Stengel hinab mit Bacillen erfüllt. Bei dieser Pflanze war die Verwelkung des ersten Blattes 4 Tage nach der Impfung aufgetreten und 8 Tage später waren sämtliche oberen 12 Blätter verwelkt.“

Ich teilte ferner mit, daß ich die Krankheit bei 2 Species von *Physalis* und einer von *Petunia* hervorrufen konnte, aber nicht bei Tabak, *Capsicum*, *Pelargonium*, *Pyrus* etc.

In Bezug auf die natürliche Infektion wurden folgende Versuche gemacht. Im Glashause wurden einige Coloradokäfer zunächst auf durch Reinkultur infizierte und nachher erkrankte Pflanzen gesetzt, und nachdem sie davon gefressen hatten, wurden sie auf eine gesunde Kartoffelpflanze übertragen. Nach 8 Tagen stellten sich die ersten Anzeichen von Verwelkung bei 12 verschiedenen Blättern ein. 10 Tage später war die ganze Pflanze angegriffen; alle Blätter welkten und schrumpften, die Stengel

wurden schmutzigrün mit schwarzen Streifen im Innern und schrumpften schließlich. Auf dem Querschnitt des Stengels ergab sich eine Ueberfüllung der Gefäße mit dem Bacillus. Bei der Untersuchung der Knollen am 32. Tage nach der Impfung ergab sich Fäulnis in allen Stadien. Dieses war aber nicht das einzige Experiment. Ich erwähnte noch:

„Drei andere große ausgewachsene Kartoffelpflanzen wurden dann in gleicher Weise mit demselben Resultate inokuliert. In jedem Falle begann die Krankheit zugleich an vielen verschiedenen Stellen der Pflanze, 7—9 Tage, nachdem die Käfer entfernt waren, und die Knollen waren 3 Wochen nach dem Auftreten der ersten Symptome am Laube ganz oder teilweise verfault. Die Kontrollpflanzen blieben vollständig gesund.“

Die hierfür benutzten Käfer stammten von einem Kartoffelfelde bei Washington, welche gesund blieben.

Eine leicht zugängliche Abbildung einer meiner durch Insekten infizierten Kartoffelpflanze findet der Leser in der Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VII. 1897. Taf. IV und p. 234.

Ferner beschrieb ich ausführlich die Morphologie des Mikroben, mit Ausnahme der Zahl und Stellung der Geißeln. Auch die Entwicklung in Bouillon, Peptonwasser, Milch, Lakmusmilch, Agar, Gelatine und Kartoffeln wurde sorgfältig beschrieben. Ich bestimmte und beschrieb sein Verhalten im Gärungskolben, d. h. mit und ohne freien Sauerstoff, in 2-proz. alkalischem Peptonwasser mit den folgenden Kohlehydraten: Glukose, Lävulose, Saccharose, Laktose, Maltose und Dextrin. Ferner bestimmte ich durch zahlreiche Versuche die Beziehungen zu Farbstoffproduktion, zu verschiedenen Wärmegraden etc.

Alle diese Beschreibungen fertigt Fischer mit den Worten ab: „Ihr drohen demnach auch keine Wundinfektionskrankheiten durch Bakterien, deren Weiterverschleppung in der Pflanze gleichfalls unmöglich ist.“ Und weiter: „Man wird aus der vorstehenden Besprechung erkennen, daß ich durchaus berechtigt war, jenen von Smith angefochtenen Absatz meiner Vorlesungen zu schreiben, der besonders auch den Zweck hatte, im allgemeinen die Möglichkeit von bakteriellen Pflanzenkrankheiten zu erörtern.“

Hierzu will ich noch bemerken, daß ich seit 14 Jahren die Stellung als Pathologe im United States Department of Agriculture inne habe, in welcher ich Gelegenheit hatte, vielerlei Pflanzenkrankheiten zu studieren, und daß ich das Spezialfeld der bakteriellen Pflanzenkrankheiten seit mehr als 8 Jahren bearbeite, was meiner Neigung um so mehr entsprach, als es noch fast ganz unbearbeitet war und sich eine vortreffliche Gelegenheit für eingehende Studien darbot.

In den diese Abhandlung begleitenden Tafeln werde ich mich auf drei Krankheiten beschränken. Ebenso gute Bilder aber konnten

von irgend einem Dutzend anderer Pflanzenkrankheiten angefertigt werden.

Der Leser möge gefälligst die beigelegten Photomikrographien genau prüfen und dann entscheiden, ob sie Fischer's Meinung oder meine eigenen Folgerungen bestätigen. Wir werden sie der Reihe nach durchnehmen und jeder einige Worte widmen.

Zunächst bespreche ich den *Bacillus tracheiphilus*, mit welchem ich meine Studien über bakterielle Pflanzenkrankheiten begann.

In Fig. 1 sieht man eine Bisammelonpflanze (*Cucumis melo* L.), geimpft am 15. April 1895 bei X mit einer Agarreinkultur von *Bacillus tracheiphilus* mittels feiner Nadelstiche (No. 150 dieser Reihe von Impfversuchen). In Fig. 2 ist eine Kontrollpflanze. Nach 4 Tagen waren beide Pflanzen augenscheinlich ganz gleich. Am 5. Tage erschien bei der geimpften Pflanze ein kleiner welker Fleck (etwa 1 qcm) an der Impfstelle. Binnen 24 Stunden war ein volles Drittel der Blattspreite welk geworden und von schmutzig-grügelbem Aussehen. Während der folgenden 18 Stunden zeigten sich keine weiteren Veränderungen. Am Nachmittag des 21. April, welcher ein sehr heißer Tag war, zeigten sich $\frac{2}{3}$ der Blattspreite verwelkt und auch die Spreite des gegenüberstehenden Blattes wurde schlaff. Am Morgen des 22. April zeigte das zunächst obere Blatt ebenfalls verwelkte Spreite. An diesem Tage wurde die Pflanze photographiert, d. h. 7 Tage nach der Impfung und 3 Tage nach dem Erscheinen der ersten Krankheitssymptome. Hierauf wurde das Gefäßbündelsystem des dem geimpften Blatt gegenüberstehenden Blattes mikroskopisch auf Bakterien untersucht, welche nun in der That in der ganzen Länge desselben gefunden wurden, wenn auch in den Gefäßen der Blattspreite selbst nur spärlich. Was das obere Blatt betrifft, so wurden die Bakterien sehr zahlreich in den Spiralgefäßen des Blattstiels bei Y gefunden. Die Stiele dieser 3 Blätter waren noch turgescent und hatten, wie auch der Stengel, noch ihre normale grüne Farbe.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber einige an tropischen Kulturpflanzen beobachtete Pilze. I.

Von Prof. Dr. A. Zimmermann in Buitenzorg.

Mit 24 Figuren.

(Schluß.)

9. *Calonectria Coffeae* n. sp.

Perithezien meist gruppenweise beisammen stehend, oberflächlich, kugelig, hellgelb, mit vorstehender, dunkelblauer Mündung, Durchmesser 0,26—0,3 mm; Asci 4-sporig; Sporen auf beiden Seiten stumpf, schwach gekrümmt, hyalin oder schwach braun, 4-zellig, 21 μ lang und 5,4—6,3 μ breit.



Fig. 9. A Ascus, B Spore von *Calonectria cremea*. A 325 mal, B 390-mal vergr.

Auf der Rinde von *Coffea arabica*, Buitenzorg.

10. *Calonectria cremea* n. sp.

Perithezien oberflächlich, meist zu vielen beisammen, kugelig, hellgelb, mit vorstehender farbloser Mündung, Durchmesser 0,2 mm; Asci (Fig. 9 A) keulenförmig, 4-sporig, ohne Paraphysen; Sporen (Fig. 9 B) auf beiden Seiten stumpf, schwach gekrümmt, hyalin, 4-zellig, 23—25 μ lang und 7—8 μ breit.

Auf abgestorbenen Früchten von *Theobroma Cacao*, Buitenzorg.

11. *Molleriella Sirih* n. sp.

Der Pilz bildet auf der Ober- und Unterseite der Blätterdunkle Stromata von 0,08—0,1 mm Durchmesser, die sich ausschließlich auf Haaren entwickeln. Die langen Haare ragen mit den Spitzen aus dem Stroma hervor (Fig. 10, B, E) und es ist an diesen nachzuweisen, daß der Pilz in die Haarzellen eindringt, während er das übrige Blattgewebe intakt läßt. Die Gestalt des Stromas ist halbkugelförmig mit unregelmäßig gelappter Oberfläche und trichterförmiger Basis bei den eingesenkten Haaren (Fig. 10 A). An der Oberfläche ist das Stroma heller gefärbt. In den helleren peripherischen Partien entstehen die Asci. Dieselben entstehen meist in geringer Anzahl und durch pseudoparenchymatisches Gewebe voneinander getrennt. Im Reifestadium gelangen sie bis an die Peripherie des Stromas. Sie sind birnförmig (Fig. 10 G), 18—20 μ lang und 12—14 μ breit, 8-sporig. Sporen hyalin, länglich-oval, 4-zellig, 10—13 μ lang und 4 μ breit.

Fig. 10. *Molleriella Sirih*. A—D Stroma im Profil, E und F Idem von oben gesehen, G Ascus. A—F 280 mal, G 960 mal vergr.

Der beschriebene Pilz ist wohl mit *Molleriella mirabilis* am nächsten verwandt und mag auch, so lange die Gruppe der Phymatosphaeriaceen noch so wenig erforscht ist, zu der Gattung *Molleriella* gestellt werden, obwohl er der Gattungsdiagnose nicht ganz entspricht.

Bei Buitenzorg auf *Piper betle*.

12. *Protomyces Theae* n. sp.

Mycel teils im Innern der Theewurzeln, teils frei und auf der Oberfläche derselben, dickwandig. Schläuche (Fig. 11) im In-

uern der Wurzeln, meist in großer Anzahl beisammen, seitlich oder endständig an den Mycelästen entstehend, unregelmäßig kugelig, Durchmesser 0,14 bis 0,22 mm, dickwandig, gelb.

Die Sporenbildung konnte nicht beobachtet werden.

In Theewurzeln, die aus der Umgebung von Buitenzorg stammten, beobachtet. Ob der Pilz dieselben zum Absterben gebracht hatte oder erst später eingedrungen war, konnte ich nicht entscheiden.

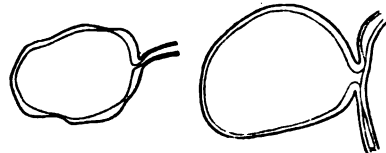


Fig. 11. Schläuche von *Protomyces Theae*. 120mal vergr.

13. *Phytophthora spec.* (*Ph. omnivora* de Bary?)

Aus Ostjava erhielt ich junge Pflanzen von *Myristica fragrans*, die zum Teil ihre Blätter verloren hatten und teilweise von der Spitze aus begonnen abzusterben. Die abgestorbenen Teile hatten eine graubraune Färbung. Durch mikroskopische Untersuchung konnten in diesen, namentlich auch an der Grenze mit den noch grünen Teilen, überall in den Intercellularen verlaufende Mycelfäden nachgewiesen werden, die nicht in Zellen gegliedert waren. Nach kurzem Aufbewahren in feuchter Luft zeigten sich ferner auf den abgestorbenen Pflanzenteilen weiße Punkte, die größtenteils aus Conidien, die anscheinend zu einer Peronosporsee gehörten, bestanden.

Diese Conidien (Fig. 12) besitzen eine eiförmige Gestalt mit einer Papille an dem einen Ende und einem zarten Stiel, der ungefähr halb so lang ist als die Spore am anderen. Die Größe der Conidien ist sehr verschieden. Ich fand unmittelbar neben einander solche von 25–60 μ Länge und 17–30 μ Breite.

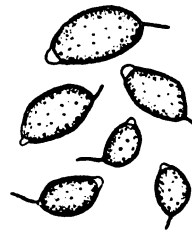


Fig. 12. *Phytophthora spec.* Reife Sporen. 240mal vergr.

Um die Entstehung der Conidien verfolgen zu können, brachte ich dicke Schnitte von abgestorbenen Stengelstücken in den hängenden Tropfen einer feuchten Kammer, worin nach kurzer Zeit neue Conidienträger gebildet wurden. Die Figuren 13 I und II stellen zwei solche Conidienträger in verschiedenen Entwicklungsstadien dar. Wie Fig. I a zeigt, wird die erste Conidie terminal gebildet, dann entsteht in geringer Entfernung vom Ende des Trägers ein Seitenast (Fig. I b), an dessen Ende dann eine neue Conidie gebildet wird (Fig. I c und d). Dieser Prozeß kann sich dann mehrmals wiederholen; so sind an dem auf Fig. II a abgebildeten Conidienträger bereits 3 Sporen gebildet und eine vierte ist in Entstehung begriffen. Später hat sich unterhalb der letzten Conidie wieder ein neuer Mycelast gebildet (Fig. II b).

Wurden diese Sporen in Wasser übertragen, so entwickelten sich daran in kurzer Zeit kräftige Keimschläuche. Bei kurz zuvor gebildeten Conidien treten diese meist am Papillende hervor und

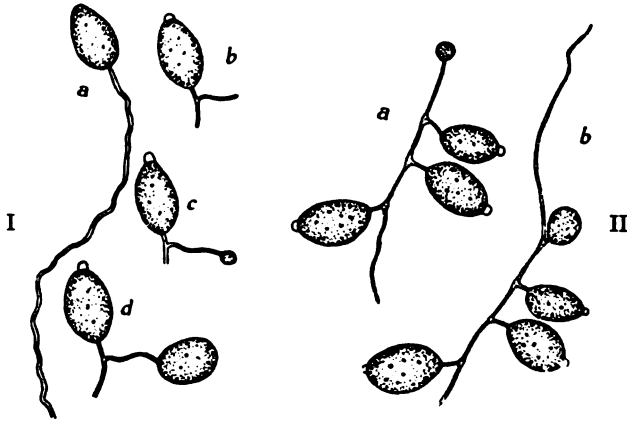


Fig. 13. *Phytophthora* spec. Enden von Conidienträgern in verschiedenen Entwicklungsstadien. I, a 34 Min., 57 Min. und 1 Stunde und 57 Min. später gezeichnet; II b 5 Stunden, 25 Min. später als II a. 240mal vergr.

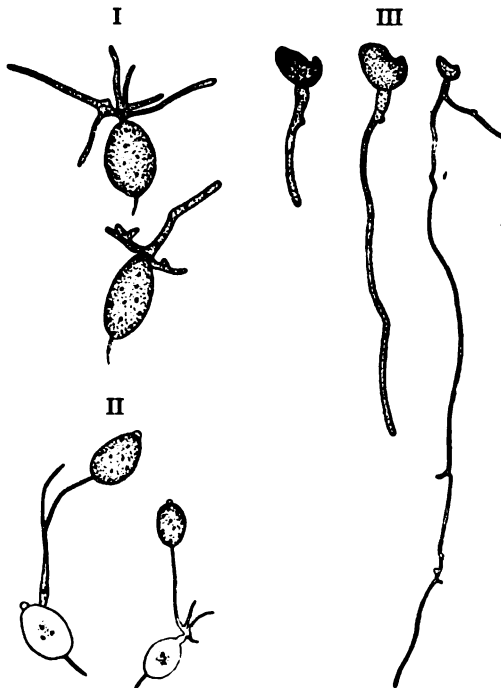


Fig. 14. *Phytophthora* spec. I. Gekeimte Sporen, II. Bildung von sekundären Conidien, III. Verschiedene Keimungsstadien. b 1 Stunde 45 Min., c 13 Stunden 25 Min. später als a. I, II und III a und b 240mal, III c 120mal vergr.

bildet sich dicht an der Austrittsstelle eine reiche Verzweigung (Fig. 14 I). Aeltere Conidien bilden dagegen meist lange, wenig verzweigte Keimschläuche (Fig. 14 III). Wiederholt wurde die Bildung von sekundären Conidien beobachtet (Fig. 14 II).

Die Bildung von Schwärmsporen konnte ich dagegen in keinem Falle eintreten sehen. Daß dieselben aber doch unter gewissen Kulturbedingungen entstehen können, wird mir dadurch sehr wahrscheinlich, daß ich verschiedentlich beobachten konnte, daß bei einzelnen Conidien der gesamte Inhalt sich von der Membran zurückzog und an der

Papille eine Oeffnung entstand. Dann sind diese Conidien aber immer abgestorben, ohne daß ein Austritt des Protoplasten eingetreten wäre. Auch Oosporen habe ich bisher nicht finden können, so daß ich die systematische Stellung unseres Pilzes nicht genau angeben kann. Ich ziehe es deshalb auch vor, den Pilz vorläufig zu *Phytophthora omnivora* zu stellen, womit die bisherigen Beobachtungen nicht im Widerspruch stehen.

14. *Chaetodiplodia Coffeae* n. sp.

Pykniden (Fig. 15 A) erst eingesenkt, später hervorbrechend, meist in großer Zahl nebeneinander stehend, kugelig oder etwas abgeflacht mit Mündungspapille, behaart, 0,25—0,35 mm Diam.; Sporen (Fig. 15 B—D) erst einzellig und farblos, später zweizellig, braun, nicht eingeschnürt, 22—30 μ lang und 10—13 μ breit; Basidien 8—12 μ lang; Paraphysen fadenförmig.

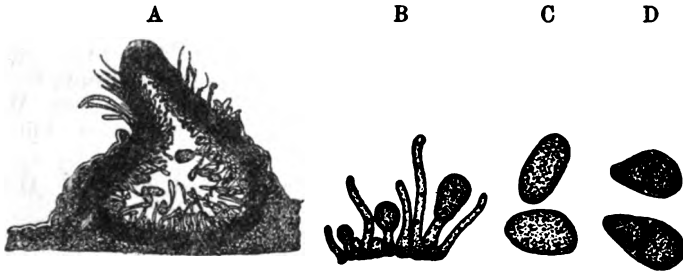


Fig. 15. *Chaetodiplodia Coffeae*. A Pyknide, B Stück des Hymenium, C unreife, D reife Spore. A 130mal, B—D 420 mal vergr.

In Buitenzorg auf der Rinde abgestorbener Zweige von *Coffea liberica* gefunden; wahrscheinlich nicht schädlich.

Bei der Aussaat in Nähragar hatten die reifen zweizelligen Sporen schon nach 2 Stunden Keimschläuche von der Länge der Sporen gebildet; auch die noch einzelligen und farblosen Sporen vermögen sofort zu keimen.

15. *Colletotrichum incarnatum* n. sp.

Sporenlager erst von der Cuticula bedeckt, später durch Sprengung derselben frei werdend (Fig. 16), 0,15—0,2 mm lang; Borsten über die gesamte Oberfläche der Sporenlager verteilt, cylindrisch oder an der Basis etwas angeschwollen, meist mit 2 Querwänden, dunkelbraun, c. 85 μ lang und 4—5 μ breit; Sporen in unregelmäßig gestalteten, fleischfarbigen, gelatinösen Massen austretend, länglich, hyalin, 14—19 μ lang, 5 μ breit. Die Basidialschicht wird durch Jodjodkalium blau gefärbt.

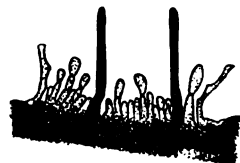


Fig. 16. *Colletotrichum incarnatum*. Schnitt durch das Sporenlager. 240mal vergr.

Auf Zweigen von *Coffea liberica*, die aus der Umgebung von Buitenzorg und

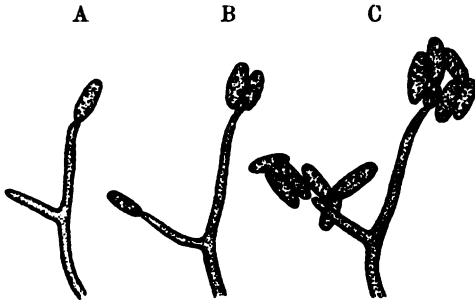


Fig. 17. *Colletotrichum incarnatum*, Bildung des Conidien in Nährlösung. *B* 5, *C* 25 $\frac{1}{2}$ Stunde später als *A*. 435mal vergr.

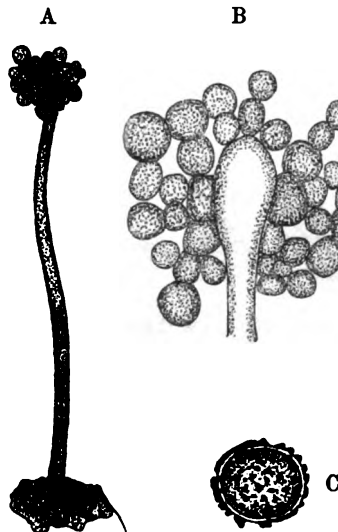


Fig. 18. *Periconia Coffeae*. *A* Sporenträger, *B* Köpfchen im optischen Durchschnitt, *C* reife Spore. *A* 190mal, *B* 414mal, *C* 940mal vergr.

oben zu bräunlich, bis 0,8 mm lang; Köpfchen kugelig, anfangs rot, später mehr bräunlich; Conidien (Fig. 19 *B* und *C*) farblos, einzellig, elliptisch, 5–6 μ lang, 2,5 μ breit. In einzelnen Fällen wurden Durchwachsungen der Köpfchen beobachtet (Fig. 19 *D* und *E*).

Auf abgestorbenen Zweigen von *Coffea arabica*. Wohl kein echter Parasit.

Von dem in Südamerika auf *Coffea arabica* beobachteten

aus Ostjava stammten, beobachtet; vielleicht ein echter Parasit.

Die Sporen keimen in Nährlösung ziemlich schnell; an den Enden der Myceläste entstehen successive zahlreiche Conidien (Fig. 17).

16. *Periconia Coffeae* n. sp.

Fertile Hyphen cylindrisch, mit 2–3 Querwänden, an der Basis

fast schwarz, nach der Spitze zu etwas heller werdend, ca. 0,9 mm lang, an der Basis 17 μ breit, an der Spitze etwas dünner; Conidien kugelig, mit hellbraunen Warzen bedeckt, Durchmesser bis 13 μ (Fig. 18).

Auf Zweigen von *Coffea arabica* beobachtet.

Der Pilz ist wohl sicher identisch mit einem von Göldi¹⁾ in Brasilien beobachteten Pilze, den dieser Autor, ohne ihm einen Namen zu geben, beschrieben und abgebildet hat. Vielleicht ist er auch identisch mit *Periconia byssoides* Pers., von dem mir nur die Diagnose von Saccardo²⁾ zugänglich ist.

17. *Stilbum Coffeae* n. sp.

Fruchtträger (Fig. 19 *A*) in großer Zahl beisammen; Stiel einfach oder wenig verzweigt, aufrecht, glatt, an der Basis weiß, nach

1) Archivos do Museu Nacional. Vol. VIII. 1887. Tab. 4. Fig. 37–39.

2) Sylloge fungorum. Vol. 4. p. 271.

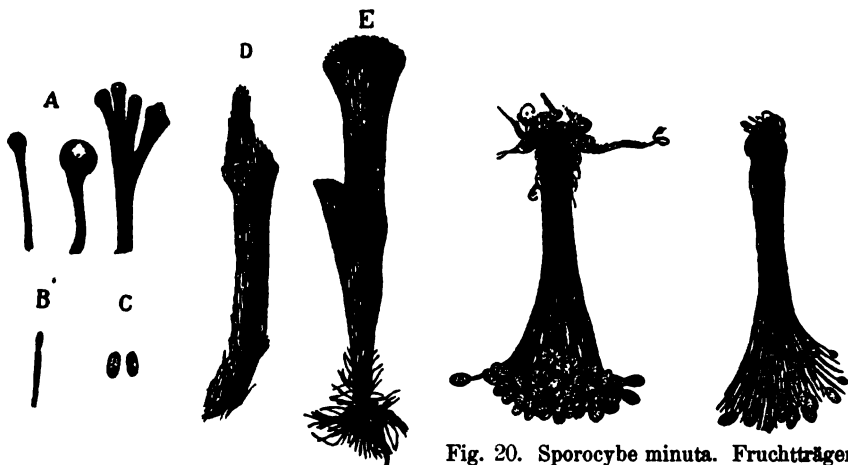


Fig. 19. *Stilbum Coffeae*. *A* Fruchträger, *B* Sporentragende Hyphe, *C* Sporen, *C*, *A* und *D* durchwachsene Fruchträger. *A* 25 mal, *B* und *C* 520 mal, *D* und *E* 56 mal vergr.

Fig. 20. *Sporocybe minuta*. Fruchträger. 435 mal vergr.

Stilbum flavidum Cooke ist unser Pilz leicht durch die viel größeren Sporen zu unterscheiden. Diese sind bei *S. flavidum* kugelig, mit einem Durchmesser von $1,5 \mu$.

18. *Sporocybe minuta* n. sp.

Fruchträger (Fig. 20) heerdenweise beisammen; Stiel an der Basis dunkelbraun, nach der Spitze zu heller werdend, $60-80 \mu$ lang, aus cylindrischen, nach oben divergierenden Fäden zusammengesetzt; Conidien elliptisch, braun, $5,0 \mu$ lang, $3,4 \mu$ breit.

Auf faulendem Holz von *Coffea arabica*.

19. *Sporocybe longicapitata* n. sp.

Fruchträger (Fig. 21) mit cylindrischem, schwarzbraunem Stiel, $1,4-1,6 \text{ mm}$ lang und $15-20 \mu$ breit; Köpfchen cylindrisch, $0,3-0,5 \text{ mm}$ lang, erst hyalin, später bräunlich; Conidien elliptisch, glatt, bräunlich, $5-6 \mu$ lang, $3-3,5 \mu$ breit.

Auf faulendem Holz von *Coffea arabica*.

20. *Graphium Coffeae* n. sp.

Stiel der Fruchträger (Fig. 22 *A* und *B*) einfach oder wenig verzweigt, cylindrisch, am Ende konisch erweitert, $0,45-0,8 \text{ mm}$ hoch, $12-22 \mu$ dick, schwarzbraun mit hellerer Spitze; Köpfchen kugelig, Sporen länglich, einzellig, hyalin, $5-8 \mu$ lang, $2-3 \mu$ breit.

Auf abgestorbenen Zweigen von *Coffea arabica*.

21. *Necator decretus* Masee.

Von Masee¹⁾ wurde unter dem Namen *Necator decre-*

1) Kew Bullet. of misc. Inform. 1898. No. 138.

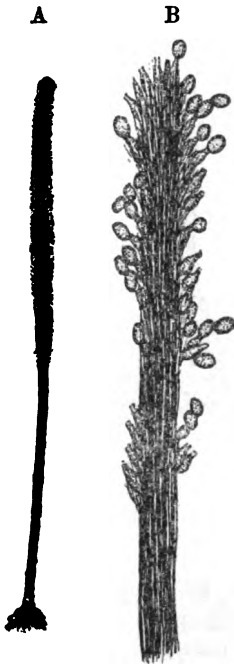


Fig. 21. *Sporocybe longi-capitata*. A Fruchtträger, B Köpfchen. A 56 mal, B 520 mal vergr.

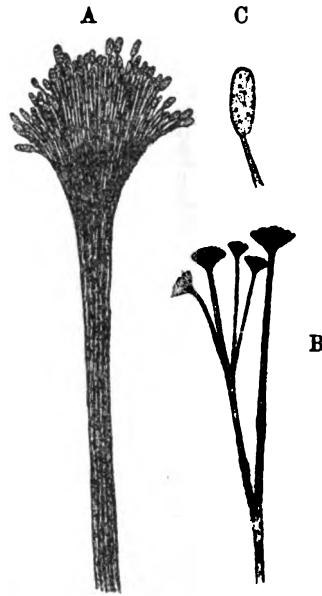


Fig. 22. *Graphium Coffeae*. A und B Fruchtträger, C Conidientragende Hyphe. A 435 mal, C 940 mal vergr.

tus ein in den Straits Settlements auf Kaffeezweigen beobachteter Pilz beschrieben, der sehr wahrscheinlich mit einem auf Java ebenfalls auf Kaffee sehr verbreiteten Pilze identisch ist. Ich will deshalb auch für den javanischen Pilz den gleichen Namen gebrauchen.

Der betreffende Pilz bildet am Stamm und auf Zweigen von *Coffea liberica* und *C. arabica* mit dem unbewaffneten Auge sichtbare, meist ungefähr kreisförmige, orangerote Fruchtkörper, die meist in großer Zahl bei einander stehen. Häufig sind einige Fruchtkörper einander so genähert, daß sie einander berühren und kleine Gruppen bilden. In feuchter Luft bilden die Fruchtkörper auf den Zweigen starke Verdickungen, die aber in trockener Luft ganz zusammenschrumpfen. Der Durchmesser der einzelnen Fruchtkörper beträgt 0,5—1 mm.

Die Oberfläche der reifen Fruchtkörper ist bedeckt mit einer großen Masse von einzelligen Sporen, die unter dem Mikroskop einzeln gesehen farblos erscheinen, in dickerer Schicht zeigen sie aber eine rote Färbung. Sie besitzen eine ziemlich unregelmäßige Gestalt (Fig. 23) mit Durchmessern

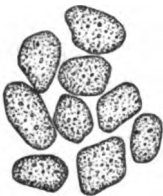


Fig. 23. *Necator decretus*, Sporen. 435 mal vergr.

von 10—20 μ . Sie keimen in Wasser sehr schnell und bilden ein normales Mycel, an dem in der feuchten Kammer keine Fruktification beobachtet werden konnte.

Die jungen Fruchtkörper (Fig. 24) sind von der Cuticula bedeckt und besitzen eine ungefähr kugelige Gestalt. Sie bestehen aus einer dünnwandigen Wandschicht, die ganz von gleichartigen, pseudo-parenchymatisch untereinander verbundenen Zellen erfüllt ist. Nach Sprengung der Cuticula öffnen sie sich an der der freien Oberfläche zugekehrten Seite. Die obersten Zellen runden sich dann ab und lösen sich als Sporen von den umliegenden ab. Allmählich schreitet dieser Prozeß immer mehr nach innen fort und es werden so fast alle Zellen der Fruchtkörper in Sporen verwandelt. Eine kettenförmige Anordnung ist weder an den jungen, noch an den alten Fruchtkörpern deutlich zu erkennen.

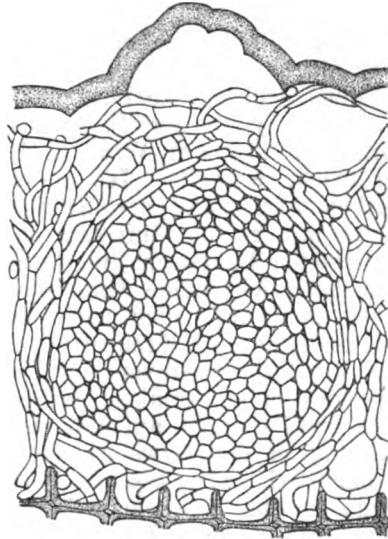


Fig. 24. *Necator decretus*. Junger Fruchtkörper.

Die obige Beschreibung weicht von der Massee'schen hauptsächlich dadurch ab, daß dieser Autor für die Sporen angiebt, daß sie goldgelbes Plasma enthalten, was bei den meinigen sicher nicht der Fall war. Wie diese Differenz zu erklären ist, kann ich nicht angeben. Jedenfalls schien sie mir aber bei der sonstigen Uebereinstimmung nicht wichtig genug, um für den javanischen Pilz einen neuen Namen zu rechtfertigen.

Der Pilz kommt gewöhnlich auf den gleichen Zweigen vor als *Corticium javanicum*, und zwar ist dies nicht nur bei den beiden obengenannten Kaffeearten, sondern auch bei *Thea chinensis*, *Bixa orellana* und *Erythroxylon Coca* der Fall.

*Nachdruck verboten.***Ueber die Mosaikkrankheit der Tabakspflanze¹⁾.**

Von Dr. Iwanowski.

Vor 2 Jahren erschien eine Arbeit von M. W. Beijerinck über die Mosaikkrankheit der Tabakspflanze, in welcher der Verf. zu dem Schlusse kommt, daß diese Krankheit einen ganz besonderen Typus der Infektionskrankheiten darstellt, indem sie durch ein lösliches Virus („Contagium vivum fluidum“) verursacht werde²⁾. Ich habe schon damals³⁾ bemerkt, einer solchen Auffassung der Krankheit nicht beistimmen zu können, da es mir gelang, mit den aus dem Saft der kranken Pflanzen gezüchteten Bakterien die gesunden Pflanzen zu infizieren. Seitdem habe ich meine Untersuchungen fortgesetzt. Die Bakterie hörte nicht auf, auch nach mehr als 10maligem Ueberimpfen in dem künstlichen Nährsubstrat, die Krankheit hervorzurufen. Somit war die Hypothese von der Uebertragung der löslichen Bestandteile des mosaikkranken Saftes ausgeschlossen. Es blieben nun noch zwei Fragen aufzuklären: 1) Die die Krankheit erregende Bakterie in den Geweben der kranken Pflanzen zu finden, und 2) den Beijerinck'schen Versuch, betreffend die Diffusion des Virus in den Agar zu erklären. Beide Fragen, besonders die letzte, nahmen viel Zeit und Arbeit in Anspruch.

Was nun diese letzte Frage anbetrifft, so möchte ich hier ganz kurz angeben, daß je nach den Versuchsbedingungen auch feste Körperchen in den erstarrten Agar eindringen können und daß ich dadurch die von Beijerinck erhaltenen Resultate erkläre. Dazu führt mich, außer direkten Versuchen, über die ich in der ausführlichen Arbeit berichten werde, besonders die Thatsache, daß ich in den Geweben der kranken Pflanzen die Bakterie der Mosaikkrankheit gefunden habe. Wie in vielen anderen Fällen, ist auch hier die Entdeckung der Bakterie nur die Frage der richtigen Fixierung und Doppelfärbung. Es sind sehr winzige, kurze Stäbchen, welche die Zellen der gelben Partien des Blattes erfüllen. Sie sind besonders zahlreich im Palissadenparenchym, welches dadurch in seiner Entwicklung gehemmt wird; im Schwammparenchym und der Epidermis sind die Bakterien minder zahlreich⁴⁾.

Somit ist eine spezifische Bakterie die Ursache der Mosaikkrankheit, und haben wir auch in diesem Falle nicht nötig, zu der völlig unhaltbaren Hypothese von „Contagium vivum fluidum“ Zuflucht zu nehmen.

Die ausführliche Arbeit, mit Beifügung von Tafeln, erscheint nach 2—3 Monaten.

St. Petersburg, 5. (18.) Dezember 1900.

1) Der botanischen Sektion der Naturforschergesellschaft zu St. Petersburg, den 15. (28.) November vorgelegt.

2) Diese Zeitschrift. Bd. V. No. 1. 1899.

3) Ibid. Bd. V. No. 8. 1899.

4) Auf der Sitzung wurden die mikroskopischen Präparate demonstriert.

Referate.

Petruschky, Gutachten über die Zweckmäßigkeit der rein mechanischen Klärung der Thorner Wasser vor Einleitung in die Weichsel. (Gesundheit. 1900. No. 17.)

Das vorliegende Gutachten wurde abgegeben nach vorgängiger Untersuchung der Abwässer während der Dauer eines Jahres. Es spricht sich durchaus zu Gunsten der rein mechanischen Klärung aus. Zwei Tabellen geben über die vorgenommenen Analysen Aufschluß. Aus der ersten der Tafeln ist zu ersehen, daß die Größe der mechanischen Reinigung an sich als eine beträchtliche zu bezeichnen ist; die gewichtsanalytische Ermittlung der suspendierten Stoffe ergab nach der mechanischen Reinigung durchschnittlich eine Verminderung von 39 Proz. Aus der zweiten Tabelle ist zu ersehen, daß die nur mechanisch geklärten Abwässer in großen Flüssen, im vorliegenden Falle in der Weichsel, fast unmerklich verschwinden. Zu diesem Ergebnisse haben die chemisch-bakteriologischen Untersuchungen des Weichselwassers an verschiedenen Stellen in der Nähe von Thorn geführt. Vom bakteriologischen Standpunkte aus ist also die rein mechanische Reinigung als völlig genügend zu bezeichnen. Verf. sucht das im speziellen für die Typhuskeime zu beweisen, indem er berechnet, daß man in einem einzelnen Falle (das Nähere ist im Original nachzulesen) annehmen könne, daß man annähernd $\frac{1}{2}$ Liter Weichselwasser trinken könne, ehe die Wahrscheinlichkeit eintritt, daß man dabei einen Typhusbacillus verschluckt.

Prussian (Wiesbaden).

Krüger, W. und Schneidewind, W., Sind niedere chlorophyllgrüne Algen imstande, den freien Stickstoff der Atmosphäre zu assimilieren und den Boden an Stickstoff zu bereichern? (Landwirtschaftliche Jahrbücher. Bd. XXIX. 1900. p. 771—804.)

Mehrfach findet man in der Litteratur die Vermutung, ja die Behauptung ausgesprochen, daß niedere Algen imstande seien, den freien Stickstoff der Luft, sei es für sich, sei es im Verein mit anderen niederen Organismen, zu assimilieren und so im Boden festzulegen. Wenn auch manche in dieser Richtung eingeleiteten Versuche die Frage endgiltig zu bejahen scheinen, so fehlen doch bis jetzt Untersuchungen, die in diesem Sinne positiv beweisender Art wären. Diese Begründung findet man u. a. darin, daß man erst seit einigen Jahren zu der Erkenntnis gekommen ist, daß sich Algen, wenigstens in verschiedenen Arten, gerade so wie andere niedere Organismen (Bakterien, Schimmelpilze) in Reinkultur züchten lassen. Ohne Verwendung solcher Reinkulturen war und ist keine Aussicht vorhanden, die Frage endgiltig zu entscheiden. Die Verff. haben sich daher die Aufgabe gestellt, diesen Gegen-

stand in ausführlicher Weise für eine Anzahl niederer chlorophyllgrüner Algen zu erledigen.

Zur Gewinnung von Algen-Reinkulturen diente als Nährmedium Gelatine. Agar-Agar und teils auch andere Nährböden boten nur geringen Anhalt für Beurteilung der Artverschiedenheit. Weiterhin wurde auch noch mit Nährlösung getränkte Pappe, gallertartige Kieselsäure, unglasierte Thonteller etc. angewendet. Wie bei der Züchtung anderer Organismen gilt es auch hier, jedes an seiner Stelle zu verwenden.

Da die zu den Versuchen zur Verwendung gelangten Nährböden sich nicht in gleichem Maße für alle Algen eigneten, so wurden dieselben in folgender Weise zusammengesetzt:

I. Traubenzucker-Salzlösung: 1 Proz. Traubenzucker + Salze (K_3PO_4 0,2 Proz., $MgSO_4$ 0,04 Proz., $CaCl_2$ 0,02 Proz.) + 1 Tropfen einer 2-prozentigen Eisenchloridlösung auf je 100 ccm der Lösung. Angewandte Menge pro Versuch 100 ccm.

II. Sand: Geglühter, mit Salzsäure ausgekochter und nochmals geglühter Sand wurde mit einer wie unter I zusammengesetzten Nährlösung getränkt. Zur Anwendung kamen 150 g Sand und 45 ccm Nährlösung.

III. Traubenzucker-Salzlösung: Wie unter I, jedoch mit einem Zusatz von 0,25 Proz. $(NH_4)_2SO_4$ und 0,25 Proz. $NaNO_3$. Stickstoffgehalt 0,0930 g.

IV. Sand: Wie bei II, jedoch mit 40 ccm Nährlösung III und 5 ccm Wasser getränkt. Stickstoffgehalt 0,0430 g.

V. Nährlösung: $\frac{1}{2}$ Proz. Fleischextrakt, $\frac{1}{2}$ Proz. Pepton, $\frac{1}{2}$ Proz. Traubenzucker. Angewandte Menge 100 ccm. Stickstoffgehalt 0,1072 g.

VI. Sand: Wie bei II, jedoch mit Nährlösung V getränkt. Stickstoffgehalt 0,0515 g.

VII. Bierwürze: 100 ccm verdünnte Bierwürze. Stickstoffgehalt 0,1135 bzw. 0,0543 g.

VIII. Sand: Wie bei II, jedoch mit 45 ccm Bierwürze getränkt. Stickstoffgehalt 0,04935 g bzw. 0,02415 g.

IX. Humoser, milder Lößlehm Boden mit einem Zusatz von 35 Proz. Sand und getränkt mit destilliertem, sterilisiertem Wasser. Stickstoffgehalt 0,1413 g.

Nach Beendigung der Versuche wurden die Kulturen eingehend durch mikroskopische Prüfung und Anlage von Gußkulturen einer Untersuchung auf Reinheit unterzogen. Es fanden sich nur wenige Gefäße vor, welche durch Schimmelpilze verunreinigt waren, sie wurden infolgedessen von der Untersuchung ausgeschlossen.

Der Stickstoff wurde in denjenigen Flüssigkeiten, die keinen Salpeter enthielten, in den für die Kulturen benutzten Glaskolben nach Kjeldahl bestimmt. Diejenigen Flüssigkeiten, welche Salpeter enthielten, wurden nach Zusatz einiger Tropfen Citronensäurelösung vorsichtig bei einer Temperatur unter 100° bis zur Syrupdicke eingedampft und nach Kjeldahl-Jodbauer analysiert.

Bei den Versuchen, für welche Sand, bzw. Erde als Substrat für die Nährlösungen benutzt worden war, wurden die salpeter-

freien Nährböden nach Kjeldahl, die salpeterhaltigen nach Kjeldahl-Jodlbauer aufgeschlossen. Nach dem Aufschließen wurde auf 500 ccm aufgefüllt und zur Destillation 100 ccm verwendet.

Versuchsreihe A wurde ausgeführt und mit 8 der Gattung *Stichococcus* angehörenden Algen. Versuchsreihe B mit 5 Algenarten aus der Gruppe *Chlorella vulgaris* Beijerinck. Versuchsreihe C mit 4 Algen der Gruppe *Chlorella protothecoides* Krüger. Versuchsreihe D mit 6 Algen aus der Gattung *Chlorothecium*.

Alle Versuche ergaben, daß keine der untersuchten Algen atmosphärischen Stickstoff zum Aufbau ihres Körpers verwendet hatte, und es ist daher höchst wahrscheinlich, daß man überhaupt niederen Algen irrtümlicherweise das Vermögen, Stickstoff zu fixieren, zugesprochen hat. Die Rolle, welche die Algen bei der Stickstofffixierung zu spielen vermögen, wie dies aus mehreren Versuchen in dieser Richtung erkennbar ist, wird daher wohl in einer anderen Weise als in der bis jetzt vielfach angenommenen unmittelbaren Assimilation des freien Stickstoffs durch die Algen ihre Erklärung finden müssen. Die Vermutung liegt nahe, daß die Algen in der einen oder anderen Weise die Entwicklung stickstoffsammelnder Organismen zu befördern imstande sind.

Hier mag zunächst noch ein Versuch erwähnt werden, der dafür Zeugnis ablegt, daß es niedere Organismen giebt, welche ihren Stickstoffbedarf aus dem Luftstickstoff zu decken vermögen. Dieser Versuch wurde ausgeführt mit einem aus dem Boden gezüchteten Organismus. Als Nährsubstrat diente eine Nährlösung ohne Zusatz von Stickstoffverbindungen, die pro 100 ccm nur 0,0003 g N enthielt.

Die Menge der angewandten Nährlösung betrug 100, 200 und 300 ccm. Nach 62 Tagen hatte die Nährlösung um 4,6 bzw. 6,8 bzw. 8,5 mg Stickstoff zugenommen. Es wurden also nicht unbedeutliche Mengen von elementarem Stickstoff assimiliert, und die Entwicklung der Kulturen machte keineswegs den Eindruck, daß den Organismen irgend ein wichtiger Nährstoff nicht zu Gebote stand.

Das Gesamtergebnis der Versuche läßt sich dahin zusammenfassen, daß:

1. beim Ausschluß von gebundenem, anorganischem oder organischem Stickstoff aus den Nährsubstraten bei allen untersuchten Algenarten keine merkliche bzw. gesunde Entwicklung in den Kulturen eintrat;
2. eine üppige Entwicklung dagegen stets stattfand, wenn man dieselben Nährsubstrate mit gebundenem Stickstoff versah; einzelne Gruppen scheinen für organisch gebundenen Stickstoff besondere Vorliebe zu zeigen, während andere sich denselben fast ebenso leicht auch in unorganischer Form anzueignen vermögen;
3. eine Stickstoffvermehrung der Kulturen, also Fixierung des atmosphärischen Stickstoffs aber in keinem, weder dem ersteren noch dem letzteren Falle vor sich ging;

4. die untersuchten chlorophyllgrünen Algen und wahrscheinlich alle anderen Organismen dieser Art im Boden also nicht imstande sind, den Boden unmittelbar an Stickstoff zu bereichern. Wenn dies unter gewissen Umständen dennoch der Fall zu sein scheint, so kann eine solche Erscheinung wohl nur darin ihre Erklärung finden, daß die dem Auge auffallenden Algen für andere niedere stickstoffbindende Organismen (Bakterien) günstige Lebensbedingungen schaffen. Sollte diese Annahme zutreffen, so ist es am wahrscheinlichsten, daß die Algen die zum Leben jener Organismen erforderliche organische, stickstofffreie Substanz hervorbringen, so daß letztere hierdurch vielfach erst in die Möglichkeit versetzt werden, von ihrer Fähigkeit, den ungebundenen Stickstoff der Atmosphäre zu binden, Gebrauch zu machen.

Eine feststehende Thatsache ist es, daß freilebende Bakterien im Ackerboden vorkommen, die unter günstigen Bedingungen den atmosphärischen, ungebundenen Stickstoff aufnehmen. Unsere weiteren, teils schon in Angriff genommenen Versuche werden nun dahin gehen, eventuelle Beziehungen der Thätigkeit dieser Organismen zu niederen Algen aufzuklären und weiterhin die blaugrünen Algen in den Kreis der Untersuchung zu ziehen.

Reinmann (Hildesheim).

Klöcker, Alb. et Schiöning, H., Phénomènes d'accroissement perforant et de formation anormale des conidies chez le *Dematium pullulans*, de Bary, et autres champignons. (Compt. rend. des travaux du Laboratoire de Carlsberg. T. V. 1900. Livr. 1. p. 47.)

In diesem Centralbl. Bd. V. 1899. p. 505 haben die Verf. schon eine vorläufige Mitteilung über den in der Ueberschrift genannten Gegenstand veröffentlicht. Derselbe ist in der vorliegenden Abhandlung ausführlicher behandelt; es werden hier auch Abbildungen und eine Methode zur Hervorrufung der Erscheinung gegeben, neue entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen auf dem Mikroskopische werden mitgeteilt und endlich findet sich eine Uebersicht über die diesbezügliche Litteratur. Außer bei *Dematium pullulans* haben Verf. auch das Phänomen bei *Oidium lactis* und bei einer nicht beschriebenen *Oidium*-Art nachgewiesen und genauer untersucht. Klöcker (Kopenhagen).

Klöcker, Alb., La formation d'enzymes dans les ferments alcooliques peut-elle servir à caractériser l'espèce? (Compt. rend. des travaux du Laboratoire de Carlsberg. T. V. 1900. Livr. 1. p. 58.)

Der wesentlichste Inhalt dieser Abhandlung ist früher in diesem Centralbl. Bd. VI. 1900. p. 241 veröffentlicht worden. Außer den daselbst erwähnten Versuchen mit *Sacch. apiculatus* Reess, mit *Sacch. n. sp.*, aus Honigbienen isoliert, und mit *Sacch. Marxianus* E. Chr. Hansen hat Ref. jetzt auch Versuche mit *Sacch. Ludwigii* E. Chr. Hansen angestellt, um möglicherweise

letzteren dazu zu bringen, Maltose vergären zu können nach dem Dubourg'schen Verfahren. Dies gelang aber nicht.

Es werden neue Versuche mit *Sacch. Marxianus*, *Sacch. exiguus* und *Sacch. Ludwigii* mitgeteilt. *Sacch. Marxianus* wurde unter Druck der während der Gärung entwickelten Kohlensäure gezüchtet und als Grundlage für die Versuche mit den 2 letztgenannten Arten diente die Betrachtung, daß die Zellen in sehr alten Würzekulturen vielleicht dazu genötigt werden könnten, die Maltose anzugreifen, wenn keine andere Nahrung vorhanden war; dies geschah aber nicht. Auch wurden junge Zellen in Würze ausgesät, in welcher Zellen derselben Art im voraus all den übrigen Zucker vergoren hatten; auch hier war das Resultat ein negatives. In der letzteren Zeit sind gleichfalls im Carlsberg-Laboratorium Versuche mit Züchtung von *Sacch. Marxianus* in Hefewasser mit 10-proz. Maltose und von *Sacch. apiculatus* in Hefewasser, teils mit 10-proz. Saccharose, teils mit 10-proz. Maltose angestellt; in betreff beider Arten wurde die Züchtung in stark luftverdünntem Raume (beinahe Vacuum) bei 25° C unternommen. Nach dem Verlaufe von 10 Tagen hatte in keinem Falle eine Gärung stattgefunden, so daß diese 2 Arten auch nicht unter diesen Verhältnissen dazu gebracht werden können, die Maltose, bezw. die Maltose und die Saccharose, zu vergären.

Die Angabe Dubourg's u. A., daß Hefepilze bei dem von ihm angegebenen Verfahren zur Bildung eines Enzyms, welches sie bisher nicht besaßen, gebracht werden können, hat sich folglich nicht als stichhaltig erwiesen. Autorreferat.

Weigmann, Ueber die bakteriologische Zusammensetzung und über die Wirkung zweier „direkter Rahmsäureentwickler“. [Mitteil. aus den Arbeiten der Versuchsstation für Molkereiwesen in Kiel.] (Milchzeitung. 1900. No. 52.)

Verf. weist darauf hin, daß seit Beginn des Jahres 1900 für die „direkten Rahmsäureentwickler“ Reklame gemacht wird. Um sie näher kennen zu lernen, untersuchte er 4 verschiedene Proben von dem Fabrikate derselben Firma auf ihre bakteriologische Beschaffenheit und gelangte zu folgendem Gesamtergebnis:

1) Die Proben enthalten keine Milchsäurebakterien und können infolgedessen keine Säure-„Erreger“ oder Säure-„Entwickler“ sein.

2) Die in den Proben aufgefundenen Pilze oder Bakterien sind je nach der Herstellungsperiode (die 4 untersuchten Proben entstammten 3 verschiedenen Herstellungsperioden) von ganz verschiedener Art; sie stellen wirkliche „Kulturen“, d. h. absichtlich vorgenommene Züchtungen in einem Nährmedium nicht dar.

3) Die aufgefundenen Mikroorganismen sind entweder — und zwar meist — von gar keiner Wirkung auf Milch und Rahm oder von solcher Wirkung, daß damit eine Verbesserung des Geschmackes sicherlich nicht erzielt wird. Es handelt sich bei diesen „Bakterienkulturen“ nicht um Kulturen, sondern der „direkte Rahmsäureentwickler“ ist nichts weiter als eine Säure- (wahrscheinlich Milch-

säure-)Lösung oder vielleicht eine mit Milchsäure versetzte Molke, die nur durch zufällig in sie geratene Mikroorganismen verunreinigt ist. Eine solche verdorbene Flüssigkeit als Säureerreger oder Säureentwickler zu bezeichnen, haben die Hersteller mithin nach des Verf.'s Ansicht keine Berechtigung.

Ein zweites, vielfach vertriebenes Präparat ist das einer G. m. b. H. Die Untersuchung desselben ergab, daß es bakterienreich war und 60 Proz. der vorhandenen Keime Milchsäurebakterien waren. Die Versuche, welche mit dieser Kultur zur Säuerung von Rahm angestellt wurden, zeigten zwar, daß dieselbe thatsächlich wirksam war, allerdings nicht in dem Maße, wie sie es nach der Gebrauchsanweisung sein sollte.

Der Verf. kommt danach zu dem Schlusse, daß von den beiden in den Handel gebrachten „direkten Rahmsäureentwicklern“ der erstere seinen Zweck gar nicht, der zweite in einer nicht ganz genügenden Weise oder wenigstens nicht in einer besseren Weise erfüllt, wie dies flüssige, wirkliche Reinkulturen von Milchsäurebakterien in einem diesen günstigen Nährmedium thun.

Da der Zweck der „direkten Rahmsäureentwickler“ der ist, unter Umgehung der Herstellung eines Säureweckers aus Magermilch in Rahm eine ebenso kräftige und ebenso rasch erfolgende Säuerung herbeizuführen, so ist dazu nach des Verf.'s Ansicht eine sehr individuenreiche, also sehr „konzentrierte“ Kultur von Milchsäurebakterien notwendig, welche sich im höchsten Stadium ihrer Virulenz befinden. Eine solche Kultur in einer Flüssigkeit erhalte man offenbar, wenn diese neben den nötigen Nährstoffen auch solche Stoffe enthält, welche das die weitere Entwicklung und Vermehrung hindernde Umsetzungsprodukt, hier also die von den Milchsäurebakterien erzeugte Milchsäure, unschädlich machen. Die Milchsäure kann man beseitigen, indem man der Nährflüssigkeit kohlen-sauren Kalk oder andere neutralisierende Stoffe zusetzt, oder auch, indem man die Milchsäurebakterien in Milch züchtet. Letztere Art der Züchtung ergibt eine sehr kräftige und von allen Nährflüssigkeiten die kräftigste Kultur, vorausgesetzt, daß in diese nicht neutralisierende Stoffe gebracht werden. Es hat dies nach des Verf.'s Ansicht seinen Grund darin, daß die Milchsäurebakterien zunächst an sich sehr anspruchsvoll in Bezug auf Gehalt und Charakter an Eiweißstoffen zu sein scheinen und der an das Casein in der Milch gebundene Aetzkalk längere Zeit vorhält, um die entstehende Milchsäure abzustumpfen.

Mit der Herstellung von Trockenkulturen von Milchsäurebakterien sind bis jetzt brauchbare Ergebnisse nicht erzielt worden. Nach allem ist also jetzt die Milchkultur die stärkste, d. h. individuenreichste und virulenteste. Bruhne (Halle a. S.).

Beijerinck, M. W., On the formation of indigo from the woad (*Isatis tinctoria*). (Koninklijke Akad. van Wetenschappen te Amsterdam. Proceedings of the meeting of Saturday, September 30th, 1899.)

Beijerinck, M. W., On indigo-fermentation. (Ibidem. Proceedings of the meeting of Saturday, March 31., 1900.)

— —, Further researches on the formation of indigo from the woad (*Isatis tinctoria*). (Ibidem. Proceedings of the meeting of Saturday, June 30th, 1900.)

Gerade in den letzten Jahren, wo die künstliche synthetische Darstellung des Indigo ganz außerordentliche, für den Anbau von Indigopflanzen so gefahrdrohende Fortschritte gemacht hat, ist auch die Erforschung der Entstehung des Indigo in den Indigopflanzen in Fluß gekommen und hat interessante Ergebnisse gezeitigt. Auch Beijerinck's drei Arbeiten bringen zahlreiche und wertvolle neue Thatsachen und Gesichtspunkte.

Beijerinck führt zunächst den Nachweis, daß die in den Pflanzen präexistierende Muttersubstanz des Indigo keineswegs überall dieselbe ist. Bei der einen Gruppe, zu der die *Indigofera*-Arten, *Phajus* und *Polygonum tinctorium* gehören, präexistiert das Glykosid Indikan, das durch ein Enzym in Zucker und Indoxyl gespalten wird, welch letzteres dann an der Luft unter geeigneten Bedingungen zu Indigblau oxydiert. Bei einer anderen Gruppe, deren alleiniger Vertreter bis jetzt allerdings nur *Isatis tinctoria* sein würde, muß die Muttersubstanz eine andere sein, da auch in Dekokten des Waid sich Indigblau bildet. In der ersten Mitteilung nimmt Beijerinck noch an, daß diese Muttersubstanz freies Indoxyl sei; in der letzten dagegen führt er den Nachweis, daß es sich um eine sehr labile Verbindung des Indoxyls, Isatan, verschieden vom Indikan, handelt. Die von Molisch zur Demonstration der Verteilung der Muttersubstanz des Indigo in den Blättern (übrigens nicht ohne Einschränkung) empfohlene Behandlung mit Alkoholdampf verwirft Beijerinck als teils unsicher, teils ungenügend. Für *Isatis* empfiehlt er Ammoniakdampf, den auch Molisch schon anwandte. Für Indikanpflanzen, besonders *Indigofera*, bei der beim plötzlichen Abtöten der Zellen, wenn überhaupt, nur ein kleiner Teil des freiwerdenden Indoxyls in Indigo übergeht, empfiehlt sich vorheriges langsames Abtöten durch Luftentziehung, am besten durch mehrstündiges Eintauchen unter Quecksilber, und nachherige Einwirkung von Ammoniak. Daß beim plötzlichen Abtöten durch Alkohol, Chloroform, Frost etc. nur ein Teil des freiwerdenden Indoxyls der Indigopflanzen in Indigo übergeht, der andere dagegen sich in anderer Weise zersetzt, erklärt Verf. sich durch die Annahme, daß beim langsamen Absterben der Zellen etwas Alkali entsteht, das die Oxydation des Indoxyls zu Indigo fördert. Im Gegensatz zu Bréaudat leugnet Beijerinck jede Beteiligung von einem oxydierenden Enzym, Indoxylase, an der Oxydation des Indoxyls.

Dementsprechend fehlt denn auch im Waid, wie Beijerinck in der dritten Mitteilung ausführt, eine Indoxylase wie überhaupt jede Oxydase; eine mit Wasserstoffsuperoxyd Guajak tinktur bläuende Peroxydase ist freilich vorhanden, doch ohne Wirkung auf Indoxyl. Dieser Körper ist im Waid in einer sehr labilen, nur in ganz schwach sauren Lösungen (1,6—3,2 ccm Normaloxalsäurelösung auf 100 ccm) beständigen Verbindung, Isatan, vorhanden und zwar besonders in

noch wachsenden Organen und wird durch ein in Wasser unlösliches Enzym, Isatase, das in keiner lebenden Zelle der Waidpflanze zu fehlen scheint, aus dem Isatan abgespalten. Alkalien und stärkere Säuren spalten ebenfalls das Isatan. Der Sitz des Isatans ist das Protoplasma, der der Isatase sind die Chromatophoren (Chloro- und Leukoplasten). Das außer Indoxyl gebildete Spaltungsprodukt konnte nicht bestimmt werden, scheint indes keine Glukose zu sein, wie Verf. daraus schließt, daß Bakterien das Isatan direkt nicht spalten, wohl aber indirekt, wenn sie Ammoniak bilden. Schwefelsaure Salze werden bei der Spaltung nicht gebildet. Isatase ist ohne Wirkung auf Indican; umgekehrt wird auch Isatan durch die Enzyme von Indikanpflanzen nicht gespalten. Die Isatase wirkt am besten bei 48—50°. Ihre Tötungstemperatur ist 70°.

Die zweite Mitteilung behandelt die Indigogewinnung aus den Indikanpflanzen. Beijerinck führt den Nachweis, daß die Spaltung des Indikans in Indoxyl, das zu Indigo oxydiert wird, und Zucker auf zweierlei Weise erfolgen kann, teils durch Enzyme, teils direkt durch das lebende Protoplasma (katabolitisch). Insbesondere die Bakterien spalten, soweit sie das überhaupt thun, das Indikan rein katabolitisch, wie Beijerinck dadurch nachweist, daß Angehörige der Gruppe Aërobakter, zu der *Bacillus coli*, *aërogenes* u. s. w. gehören, und für die ihr Spaltungsvermögen gegenüber Indikan geradezu charakteristisch ist, nur im lebenden, nicht aber im toten Zustande Indigo in Indikanlösungen bilden. Die Spaltung des Indikans durch Aërobakter erfolgt regulatorisch und wird durch Glukose und Mannose, verhindert, nicht aber durch andere Zuckerarten. Auch *Saccharomyces Ludwigii* und *Monilia caudida* sowie die darauf geprüften Schimmelpilze wirken katabolitisch gegenüber Indikan. Dagegen spalten einige andere Saccharomyceten (*S. apiculatus* u. a.) das Indikan wie auch die Indikanpflanzen selbst durch gebildete Enzyme. Diese Enzyme scheinen bei den verschiedenen Organismen verschieden zu sein, da die Optimaltemperaturen für die Präparate aus verschiedenen Pflanzen verschieden sind. Das Optimum liegt für das Enzym von *Indigofera*, von *Phajus*, von *Saccharomyces sphaericus* und von *Polygonum tinctorium* bei resp. 61, 53, 44 und 42° C, für Emulsin, das ebenfalls Indikan spaltet, bei 55°. Quantitativ ist die Wirkung dieser Enzyme übrigens auch verschieden, die des Emulsins am schwächsten. Am besten wirken die Indikan-Enzyme in ganz schwach saurer Lösung. Bei *Polygonum tinctorium* und *Phajus grandiflorus* wirkt übrigens bei der Spaltung des Indikans neben dem Enzym auch das Plasma selbst katabolitisch mit. Durch Einlegen dickerer Schnitte in Indikanlösung resp. Behandlung solcher mit einer kochenden Lösung von Isatin in Salzsäure ließ sich zeigen, daß das Enzym in den Chloroplasten, das Indikan im farblosen Protoplasma der Mesophyllzellen bei *Phajus* lokalisiert ist.

Bezüglich der interessanten Einzelheiten muß auf die Originale verwiesen werden. Von ganz allgemeinem Interesse ist das Schlußkapitel der letzten Arbeit, das „Nekrosis and Nekrobiosis“ überschrieben ist. Unter Nekrosis versteht Beijerinck ein Ab-

sterben des Plasmas unter gleichzeitiger Vernichtung der Enzyme, unter Nekrobiosis das Absterben unter Erhaltung der letzteren, und er macht darauf aufmerksam, wie viele postmortale Veränderungen in Farbe und Duft von Pflanzen sich durch Enzymwirkungen erklären und daher ausbleiben bei Nekrose, dagegen eintreten bei Nekrobiose. Als Beispiele werden aufgeführt das Schwarzwerden vieler Pflanzen beim Trocknen für das Herbarium, sowie die Entstehung von Geruchstoffen (Senföle bei Cruciferen, Tropaeolum, Benzaldehyd bei Pomaceen, Salicylsäuremethyläther bei Spiraeen und Betula, Vanillin, Cumarin u. dgl. bei Vanillefrüchten, *Asperula odorata*, Wurzelstock von *Geum urbanum*). Ref. kann sich dem Schlußworte dieses Kapitels: „The comparative study of necrosis and necrobiosis in plants shows the way for the detection of a number of new chromogenes or glucosides and specific enzymes“, mit um so größerer Genugthuung anschließen, als er selbst bereits auf diese Verhältnisse aufmerksam gemacht und nach ähnlichem Gedankengang gearbeitet hat ¹⁾. Behrens (Karlsruhe).

Hiratsuka, N., Notes on some Melampsorae of Japan. III. Japanese species of Phacopsora. (Tokyo Bot. Magaz. 1900. p. 87. Mit Taf. III.)

Die Eigentümlichkeit der Gattung *Phacopsora* besteht darin, daß die einzelligen Teleutosporen in mehreren Lagen übereinander gebildet werden und alle zu einem festen, linsenförmigen Sorus verwachsen sind. Japan beherbergt von dieser interessanten Gattung 2 Arten, von denen Hiratsuka eine genaue Beschreibung giebt.

Phacopsora Ampelopsidis Diet. et Syd. besitzt Uredo- und Teleutosporen und wurde bisher auf folgenden Nährpflanzen beobachtet: *Ampelopsis heterophylla*, *Parthenocissus tricuspidata*, *Vitis Coignetiae*, *Vitis flexuosa* und *Vitis vinifera*.

Während diese Art ausschließlich auf Japan beschränkt ist, findet sich die zweite bis nach Indien hin. *Ph. Ehretiae* (Barcl.) Hirats. besitzt Pykniden, Uredo- und Teleutosporen. Bisher wurde die Art nur auf *Ehretia acuminata* nachgewiesen.

Lindau (Berlin).

1) Beiträge zur Kenntnis der Obstfäulnis. (Dieses Centralblatt. Bd. IV. 1898. p. 771) (Chromogene); Weitere Beiträge zur Kenntnis der Tabakpflanze. XIII. (Die landw. Versuchs-Stat. Bd. LII. 1899. p. 486 (dgl.); Ueber das Vorkommen des Vanillins in der Vanille. (Der Tropenpflanzer. Bd. III. 1899. p. 299 ff. (Vanillin, Cumarin). Daß das Vanillin in einer durch Emulsin spaltbaren Bindung präexistiert, hat dann Bause (Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel. 1900. p. 21 ff.) gezeigt.

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. ARTHUR WÜRZBURG,
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

- Chamot, E. M.**, Micro-chemical analysis. V. (Journ. of applied microsc. Vol. III. 1900. No. 5. p. 849—859.)
- Denne, M. T.**, A method of orienting and imbedding in paraffin. (Journ. of applied microsc. Vol. III. 1900. No. 6. p. 888—890.)
- Günther, C.**, Avviamento allo studio della batteriologia con speciale riguardo alla tecnica microscopica. Prima trad. ital. del F. Marino con prefaz. del A. di Vestea. Disp. 3/4. p. 65—128. 8°. Torino (Unione tipogr.-editr.) 1900.
- Hellendall, H.**, Ein neuer Färbetrog für Serienschritte. (Ztschr. f. wissenschaftl. Mikrosk. Bd. XVII. 1900. Heft 3. p. 299—300.)
- Hill, H. W.**, Sterilizing instruments during bacteriological autopsy work. (Journ. of applied microsc. Vol. III. 1900. No. 8. p. 964.)
- Lutz, L. et Guéguen, F.**, De l'unification des méthodes de culture pour la détermination des mucédinées et des levures. Congrès internat. de botan. 8°. 9 p. Lons-le-Saunier (Impr. Declume) 1900.
- Marx, H.**, Ueber Sporenbildung und Sporenfärbung. (Centralbl. f. Bakteriologie. I. Abt. Bd. XXIX. 1901. No. 1. p. 11—12.)
- Paul, Th.**, Ein Verfahren, Dauerpräparate von Bakterienkulturen herzustellen, die auf festen Nährböden in Petri'schen Schalen gezüchtet wurden. (Centralbl. f. Bakteriologie. I. Abt. Bd. XXIX. No. 1. p. 25—29.)
- Schaffner, J. H.**, A differential stain for cell structures. (Journ. of applied microsc. Vol. III. 1900. No. 8. p. 960.)
- Zollikofer, E.**, Kammerfärbung der Leukocyten. (Ztschr. f. wissenschaftl. Mikrosk. Bd. XVII. 1900. Heft 3. p. 313—321.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

- Bendix, E.**, Zur Chemie der Bakterien. (Dtsche med. Wehchr. 1901. No. 2. p. 18—19.)
- v. Daday, E.**, Helminthologische Studien. Einige in Süßwasser-Entomotraken lebende Cereocystis-Formen. (Zool. Jahrb. Abt. f. System., Geogr. u. Biol. d. Tiere. Bd. XIV. 1900. Heft 3. p. 161—214.)
- Diamare, V.**, Paronia Carrinoi, n. g. n. sp. von Tänioiden mit doppelten Geschlechtsorganen. (Centralbl. f. Bakteriologie. I. Abt. Bd. XXVIII. 1900. No. 24. p. 846—851.)
- Fermi, C.**, Mikrobische Asche, vorzugsweise aus einem einzigen Metalle bestehend. (Centralbl. f. Bakteriologie. I. Abt. Bd. XXIX. 1901. No. 1. p. 9—10.)
- Fernbach, A.**, Sur la tannase. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXI. 1900. No. 26. p. 1214—1215.)
- Heine, F.**, Beiträge zur Anatomie und Histologie der Trichocephalen, insbesondere des Trichocephalus affinis. (Centralbl. f. Bakteriologie. I. Abt. Bd. XXVIII. 1900. No. 22, 23. p. 779—787, 809—817.)
- Jelden, H.**, Ueber Täniemißbildungen. [Inaug.-Diss.] gr. 8°. 11 p. Kiel 1900.
- Katsurada, F.**, Beitrag zur Kenntnis des Distomum spathulatum. (Beitr. z. pathol. Anat. Bd. XXVIII. 1900. Heft 3. p. 479—505.)
- Kohlbrugge, J. H. F.**, Vibrien-Studien. II. Panmorphismus und erbliche Variationen. (Centralbl. f. Bakteriologie. I. Abt. Bd. XXVIII. 1900. No. 24. p. 833—842.)
- Lévy, L.**, Microbes et distillerie. 8°. 323 p. Paris (Carré & Naud) 1900.
- Lindner, F.**, Gärversuche mit verschiedenen Hefen- und Zuckerarten. (Wehchr. f. Brauerei. 1900. No. 48—51. p. 713—716, 733—735, 746—748, 762—765.)
- v. Linstow, Taenia horrida, Tetrathorium macrocephalum und Heterakis distans.** (Arch. f. Naturgeschichte. 1901. Jahrg. LXVII. Bd. I. Heft 1. p. 1—9.)

- Lounsbury, C. F.**, Notes on some South African ticks. (Proceed. of the 12. annual meet. of the assoc. of econom. entomol. U. S. Departm. of agricult. Divis. of entomol. N. S. Bullet. No. 26. Washington 1900. p. 41—49.)
- Lüstner, G.**, Die Perithezien des *Oidium Tuckeri*. [Vorl. Mitteil.] (Mitteil. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. 1900. No. 12. p. 177—178.)
- v. Ofenheim, E.**, Ueber eine neue Distomidengattung. (Aus: Ztschr. f. Naturwiss.) gr. 8°. 42 p. m. 4 Fig., 1 Taf. u. 1 Bl. Erklärgn. Stuttgart (E. Schweizerbart) 1900. 0,80 M.
- Pottevin, H.**, La tannase. Diastase dédoublant l'acide gallo-tannique. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXI. 1900. No. 26. p. 1215—1217.)
- Salkowski, E.**, Ueber das „Invertin“ der Hefe. (Hoppe-Seyler's Ztschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXXI. 1900. Heft 3/4. p. 305—328.)
- Slowtsoff, B.**, Zur Kenntnis der pflanzlichen Oxydasen. (Hoppe-Seyler's Ztschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXXI. 1900. Heft 3/4. p. 227—234.)
- Sorel, A.**, De la fermentation continue en distillerie de mélasses. (Bullet. de l'assoc. d. chimist.) (Journ. de la distillerie. 1900. No. 863. p. 594.)
- Speiser, F.**, Ueber die Nykteribiiden, Fledermausparasiten aus der Gruppe der pupiparen Dipteren. (Arch. f. Naturgeschichte. 1901. Jahrg. LXVII. Bd. I. Heft 1. p. 11—77.)
- Thiry, G. N.**, Bacille polychrome et actinomyces mordoré; recherches biologiques sur les bactéries bleues et violettes, polychromisme; corps bactériens et cristaux colorés; matière colorante cristallisée. [Thèse.] Nancy 1900.
- Vandam, L.**, Sur les diastases. (Bullet. trimestr. de l'assoc. d. anciens élèves de l'école de brasserie de Louvain. T. VI. 1900. p. 21—29.)
- Wolf, J.**, Présence de l'alcool méthylique dans les jus fermentés de divers fruits. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXI. 1900. No. 27. p. 1323—1324.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft und Wasser.

- Bissosero, G.**, Ueber die Reinigung des Trinkwassers durch das Abkochen. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXIX. 1901. No. 1. p. 29—33.)

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

- Hins, G.**, Experimental-Untersuchungen zur Frage der Verwendbarkeit des Formaldehydgases zur Desinfektion von Kleidungsstücken und von Wohnräumen. [Inaug.-Diss.] gr. 8°. 30 p. Kiel 1900.
- Koller, Th.**, Die Konservierung der Nahrungsmittel und die Konservierung in der Gärungstechnik. (Samml. chem. u. chem.-techn. Vortr., hrsg. von F. B. Ahrens. Bd. V. Heft 11 u. 12.) gr. 8°. 60 p. Stuttgart (Ferdinand Enke) 1900. 2,40 M.

Fleisch.

- Emmerich, R.**, Ueber die Behandlung und Konservierung von rohem Fleisch. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel etc. 1901. Heft 1. p. 17—18.)
- Mai, C.**, Wann ist eine Fleischware als verdorben zu betrachten? (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel etc. 1901. Heft 1. p. 18—21.)
- Rasmussen, P. B.**, Om Forgiftninger ved Kodvarer. (Maanedsskr. f. dyrlaeger. 1900. Haeft 9. p. 329—364.)

Milch, Molkerei.

- Henseval, M.**, Les microbes du lait et l'examen bactériologique du lait stérilisé. (Mouvem. hygién. 1900. No. 12. p. 553—560.)
- Lameris, J. F.** u. **van Harreveld, H. G.**, Bakterienbefund in Kuhmilch nach abgeheilter Mastitis. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. 1901. Heft 4. p. 114—115.)
- Peterson, P. V. F.**, Forsøg med Pasteuriseringsapparater i 1900. (Maelkeritidende. 1900. No. 45, 46. p. 769—782, 789—798.)
- Weigmann, H.**, Ueber die bakteriologische Zusammensetzung und über die Wirkung zweier „direkter Rahmsäure-Entwickler“. (Milch-Ztg. 1900. No. 52. p. 819—820.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

- Raebiger, W.**, Ueber die Rotfärbung eines Hühnereies durch den *B. prodigiosus*. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. 1901. Heft 4. p. 115—116.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

- Gärtner**, Regulative zur Wohnungsdeseinfektion. (Korrespondenzbl. d. allg. ärztl. Ver. v. Thüringen. 1900. Heft 12. p. 618—623.)
- Herfeldt**, Ueber den heutigen Stand der Stalldüngerkonservierungsfrage. (Landwirtschaftl. Ztschr. f. d. Rheinprovinz. 1900. No. 26. p. 301—302.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

- Aloi, A.**, Delle principali malattie della vite. Corso di conferenze di agrar. etc. raccolte e pubbl. per cura di G. de Maria 1900.
- Baldrati, J.**, Rosore perforazione e antracnosi punteggiata della vite. (Estr. d. Italia agricola. 1900. No. 6.) 8°. 4 p. Piacenza (Tip. V. Porta) 1900.
- Felt, E. P.**, Some effects of early Spring applications of insecticides on fruit trees. (Proceed. of the 12. annual meet. of the assoc. of econom. entomol. U. S. Departm. of agricult. Divis. of entomol. N. S. Bullet. No. 26. Washington 1900. p. 22—25.)
- Howard, L. O.**, Establishment of a new beneficial insect in California. (Proceed. of the 12. annual meet. of the assoc. of econom. entomol. U. S. Departm. of agricult. Divis. of entomol. N. S. Bullet. No. 26. Washington 1900. p. 16—17.)
- Johnson, W. G.**, Notes upon the destructive green pea louse (*Nectarophora Destructor* Johns.) for 1900. (Proceed. of the 12. annual meet. of the assoc. of econom. entomol. U. S. Departm. of agricult. Divis. of entomol. N. S. Bullet. No. 26. Washington 1900. p. 55—59.)
- Quaintance, A. L.**, The brown rot of peaches, plums and other fruits (*Monilia fructigena* Persoon). (Georgia experim. stat., Ga. Bullet. No. 50. 1900. Oct. p. 237—269.)
- Sanderson, E. D. and Penny, C. L.**, Hydrocyanic-acid as an insecticide on low-growing plants. (Proceed. of the 12. annual meet. of the assoc. of econom. entomol. U. S. Departm. of agricult. Divis. of entomol. N. S. Bullet. No. 26. Washington 1900. p. 60—66.)

Inhalt.

Originalmittellungen.

- Holts, Wilhelm**, Beitrag zur Kenntnis der Baumflüsse und einiger ihrer Bewohner. (Orig.), p. 113.
- Iwanowski**, Ueber die Mosaikkrankheit der Tabakspflanze. (Orig.), p. 148.
- Smith, Erwin F.**, Entgegnung auf Alfred Fischer's „Antwort“ in betreff der Existenz von durch Bakterien verursachten Pflanzenkrankheiten. (Orig.) [Forts.], p. 128.
- Zimmermann, A.**, Ueber einige an tropischen Kulturpflanzen beobachtete Pilze. I. (Orig.) [Schluß], p. 139.

Referate.

- Bejerinck, M. W.**, On the formation of indigo from the woad (*Isatis tinctoria*), p. 154.
- —, On indigo-fermentation, p. 155.
- —, Further researches on the formation of indigo from the woad (*Isatis tinctoria*), p. 155.
- Hiratsuka, N.**, Notes on some Me-

- lampsorae of Japan. III. Japanese species of *Phacopsora*, p. 157.
- Klöcker, Alb.**, La formation dans les ferments alcooliques peut-elle servir à caractériser l'espèce?, p. 152.
- Klöcker, Alb. et Schönning, H.**, Phénomènes d'accroissement perforant et de formation anormale des conidies chez le *Dematium pullulans* de Bary et autres *Champignons*, p. 152.
- Krüger, W. u. Schneidewind, W.**, Sind niedere chlorophyllgrüne Algen imstande, den freien Stickstoff der Atmosphäre zu assimilieren und den Boden an Stickstoff zu bereichern?, p. 149.
- Petrusohky**, Gutachten über die Zweckmäßigkeit der rein mechanischen Klärung der Thorner Wasser vor Einleitung in die Weichsel, p. 149.
- Weigmann**, Ueber die bakteriologische Zusammensetzung und über die Wirkung zweier „direkter Rahmsäureentwickler“, p. 153.

Neue Litteratur, p. 158.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Prof. Dr. J. Behrens in Weinsberg i. W.,
Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Dr. v. Freudenreich in Bern, Privatdocent
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Dr. G. Harris Morris
in London, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädenswil, Dr. Erwin F. Smith in
Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr.,
Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel
und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg.

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VII. Band.

Jena, den 14. März 1901.

No. 5/6.

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

*Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die
Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung
der ersten Korrekturabsätze der Verlagsbuchhandlung mitteilen.*

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

**Auswahl von Kohlehydraten durch verschiedene
Hefen bei der alkoholischen Gärung.**

[Mitteilungen aus der vom kgl. bayer. Staate subvent. Versuchs-
station für Bierbrauerei zu Nürnberg.]

Von Dr. Wilhelm Knecht.

Im Jahre 1885 veröffentlichte W. Pfeffer in den Jahrbüchern
für wissenschaftl. Botanik. Bd. XXVIII. p. 295 u. f. Versuche „Ueber

Elekktion organischer Nährstoffe“, wobei er von folgenden Betrachtungen ausging: „Werden zwei Verbindungen, von denen eine jede eine zureichende Nahrung ist, gleichzeitig dargeboten, so drängt sich stets die Frage auf, ob nunmehr die beiden substituierbaren Körper in den Stickstoffwechsel gerissen werden, oder ob und inwieweit der eine den anderen vor Verarbeitung zu schützen vermag.“

Zu seinen Versuchen benutzte Pfeffer folgende Kombinationen von Kohlenstoffverbindungen: Dextrose + Glycerin, Rechts- + Linkswinsäure. Als Versuchsobjekte dienten ihm *Aspergillus niger* und *Penicillium glaucum*, zwei zu den Perisporien gehörende Pilze, in Reinkulturen gezüchtet. Aus Gründen, welche ich unten anführen werde, kommen in dem vorliegenden Falle hauptsächlich die Kombinationen von Dextrose + Glycerin in Betracht, und will ich deshalb zum besseren Verständnisse der Pfeffer'schen Untersuchungen die von ihm erhaltenen Resultate in Form einer Tabelle wiedergeben. Vorerst sollen bezüglich der Versuchsbedingungen der Tabelle folgende Bemerkungen vorausgeschickt sein: Die Dauer der Einwirkung der beiden Pilze betrug 20, 25, 26 Tage; nach dieser Zeit wurde die Flüssigkeit chemisch untersucht und der Gehalt an Dextrose + Glycerin quantitativ bestimmt.

		Geboten		Verbraucht			
Tage		Dextrose	Glycerin	Dextrose	Proz.	Glycerin	Proz.
<i>Penicillium glaucum</i>	25	4 g	1,647 g	1,664 g	41,60	0,223 g	13,54
	25	6 „	1,836 „	2,67 „	44,50	0,087 „	4,74
	20	8 „	0,918 „	3,37 „	56,17	—	—
Umgekehrtes Verhältnis: Glycerin im Ueberschuß							
<i>Penicillium glaucum</i>	25	1 g	8,262 g	1, g	100	7,103 g	85,97
	25	2 „	7,344 „	2, „	100	4,260 „	58,01
	26	3 „	6,426 „	2,565 „	85,5	1,310 „	20,38
	26	4 „	5,508 „	1,34 „	33,5	1,331 „	24,16

Aus dieser Tabelle ergibt sich nun folgendes: Durch großen Ueberschuß von Dextrose in der Nährlösung kann der Verbrauch von Glycerin durch die Pilze vollkommen hingehalten werden, nicht aber umgekehrt, durch einen noch so großen Ueberschuß von Glycerin der Verbrauch von Dextrose. Bei Zusatz von 4 Proz. Dextrose wird von 1,6 g Glycerin eine zwar relative geringe, aber doch nennenswerte Menge verarbeitet; mit Vermehrung der Dextrose auf 6 Proz. nimmt der Glycerinkonsum merklich ab und als auf 0,92 Proz. Glycerin 8,2 Dextrose kamen, hörte der Verbrauch an Glycerin trotz üppigen Wachstums vollständig auf. Wird das Verhältnis umgekehrt angewendet, so wird 1 g resp. 2 g Dextrose vollständig aufgezehrt, obgleich noch 3,1 g Glycerin am Schlusse vorhanden war; auch 3—4 g Dextrose werden im Verhältnis stark aufgezehrt.

Wendet man nun die für *Aspergillus* und *Penicillium* geltenden Bedingungen auch auf die Hefezelle an, so glaubt

Pfeffer, daß auch für diese Umstände eintreten müssen, die die Bevorzugung des einen oder anderen Körpers bethätigen.

Um zu entscheiden, ob nun wirklich ähnliche Verhältnisse, wie sie Pfeffer für die beiden Pilze gefunden auch für die Hefen vorliegen, so habe ich in dem gärungsphysiologischen Laboratorium der vom K. B. Staate subventionierten. Versuchsstation für Bierbrauerei zu Nürnberg unter gütiger Leitung des Herrn Professor Dr. E. Prior eine Anzahl Versuche durchgeführt.

Ich habe hierbei im Gegensatz zu Pfeffer nicht eine Zuckerart und Glycerin, sondern zwei Zuckerarten, Glucose (Dextrose) und Fruktose (Lävulose) verwendet, welche beide direkt von den Hefen vergoren werden und bei gleicher empirischer Zusammensetzung sich nur durch verschiedene Konfiguration der Moleküle von einander unterscheiden.

Die Gründe, welche mich hierzu bestimmten, waren in erster Linie der Umstand, daß schon früher mit diesen Kohlehydraten ähnliche Versuche, wenn auch nicht in der Vollständigkeit der meinigen und nicht unter verschiedenen Ernährungsbedingungen, durchgeführt worden waren, während es mir in zweiter Linie darum zu thun war, zwei Nährstoffe zu verwerten, welche chemisch derselben Körperklasse angehören und von welchen jeder für die Hefe den nämlichen Nährwert besitzt.

Die ersten Untersuchungen, die auf das Wahlvermögen der Hefe Bezug hatten, waren die von Dubrunfaut¹⁾; er fand hierbei, daß die Hefe unter den gärungsfähigen Zuckern eine Auswahl treffen könne. Dieser Annahme konnte sich jedoch B. Bourquelot^{2) 3)} nicht anschließen. Derselbe ließ eine Mischung von Maltose und Lävulose vergären und fand dabei, daß die auswählende Thätigkeit, resp. Vergärung als eine gleichzeitige, aber nach ungleichen Gewichtsteilen erfolgende Zerstörung der Zuckerarten anzusehen sei, welche in der verschiedenen osmotischen Geschwindigkeit, mit der die einzelnen Zuckerarten die Zellmembran der Hefe durchdringen, ihren Grund hatte. Lävulose diffundierte schneller als Maltose, infolgedessen ist auch die Elektion der Hefe für die Lävulose größer denn für Maltose.

Ein schönes Beispiel für die auswählende Thätigkeit der Hefen bietet der Rohrzucker, welcher vor der Vergärung durch das Invertin der Hefe in den aus gleichen Teilen Glukose und Fruktose bestehenden Invertzucker übergeführt wird. Die Vergärung des Rohrzuckers ist demnach als die Spaltung eines Gemisches, bestehend aus gleichen Gewichtsteilen Glukose und Fruktose, anzusehen.

Aus allen Versuchen, die bis jetzt in dieser Richtung gemacht wurden, geht hervor, daß die Gärung der Glukose und Fruktose ein nebeneinander verlaufender Prozeß ist, entgegengesetzt früherer Meinungen, wonach angenommen wurde, zuerst würde alle ge-

1) Ann. chim. et phys. (3) 21. p. 169.

2) Ann. chim. et phys. (6) 9. p. 245.

3) Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft. 1887. p. 61.

bildete Dextrose vergoren und sobald dies geschehen, erst die Gärung der Lävulose beginnen.

Speziell mit diesen Vorgängen beschäftigt sich eine neuere Arbeit Hiepe's¹⁾ im Anschluß an Untersuchungen von Morris und Wells²⁾.

Hiepe kommt aus seinen mit 13 Hefearten angestellten Versuchen in der Hauptsache zu folgenden Schlüssen:

Beide Zucker werden gleichzeitig in verschiedener Menge vergoren und verschwinden gleichzeitig.

Die Menge der in jedem Tage vergorenen Lävulose ist kleiner, als die der vergorenen Dextrose bis zum 4. oder 5. Tag. Vom 4. oder 5. Tage ab vergärt mehr Lävulose als Dextrose. Hiepe ist nicht der Meinung, daß alle Dextrose vergäre und reine Lävulose zurückbleibe.

Auch Prior³⁾ hat in dieser Richtung interessante Resultate erhalten. Prior hat mit den Nürnberger Hefen L (sogen. Saaztypus) und A (sogen. Frobergtypus) bei 25° C Invertzucker vergoren. Die Invertzuckerlösung, die er anwandte, enthielt in 100 ccm Hefenwasser 7,276 Invertzucker; zugegeben wurde eine äußerst geringe Spur der Hefen und die Versuche wurden nach 3, 9, 12, 24 Stunden unterbrochen, sowie nach 2 und 3 Tagen. In der vergorenen Flüssigkeit wurde durch Polarisation und Reduktion die noch vorhandene Menge von Dextrose und Lävulose ermittelt. Prior's Resultate sind folgende:

Dextrose und Lävulose werden von beiden Hefen nebeneinander vergoren. Beide Hefen vergären innerhalb der nämlichen Zeit mehr Dextrose als Lävulose, solange die Mengen der beiden Zucker gleich oder annähernd gleich sind; sobald aber infolge der rascheren Vergärung der Dextrose erheblich mehr Lävulose als Dextrose vorhanden ist, vergären beide Hefen innerhalb derselben Zeit mehr Lävulose als Dextrose.

Die Versuche bestätigen ferner, daß die Geschwindigkeit der Vergärung der beiden Zucker abhängig ist von der Größe ihres Diffusionsvermögens.

Gayon und Dubourg⁴⁾ fanden, daß einige Hefen die Dextrose rascher vergären, als Lävulose, während andere sich diesen beiden Zuckern gegenüber umgekehrt verhalten. Es ist daher das Verhalten derjenigen Hefen, welche Lävulose rascher zu vergären vermögen denn Dextrose, als Ausnahme zu betrachten, welche sowohl im Widerspruch mit sämtlichen bisher in dieser Richtung angestellten Versuchen als auch mit den von mir und neuerdings von Bornträger⁵⁾ erhaltenen Resultaten steht.

Buchner⁶⁾ hat Versuche mit Hefepreßsaft über die ver-

1) Journal of the Federates Institutes of Brewing, Vol. I. 1895. p. 288—322.

2) Wochenschrift für Bierbrauerei. 1892. p. 833.

3) Chemie und Physiologie des Malzes und Bieres. p. 333.

4) Wochenschrift f. Brauerei. 1890. p. 595.

5) Die Zuckerindustrie. Bd. XXII. 1897. 1092, auch Zeitschrift für das gesamte Brauwesen. 1898. p. 22.

6) Berichte der deutsch. chem. Gesellschaft. Bd. XXXI. 1898. p. 1901.

schiedene Schnelligkeit der Vergärung von Dextrose und Lävulose angestellt und hierbei gefunden, daß Hefepresssaft beide Zucker gleich rasch vergärt. Buchner zieht daraus den wohlberechtigten, von Prior schon früher gezogenen Schluß, daß die verschiedene Vergärbarkeit durch die Hefezellen durch ein verschiedenes Diffusionsvermögen bedingt ist.

Später veröffentlichte E. Buchner¹⁾ Versuche, nach welchen Dextrose und Lävulose auch durch lebende Bierhefe gleich schnell vergoren werden, wobei er allerdings die Zucker nicht in Mischung, sondern für sich allein vergären ließ.

Solche Versuche hat E. Prior²⁾ schon vor mehreren Jahren angestellt, um das Durchlässigkeitsvermögen der Hefezellen zu prüfen, wobei er zu den entgegengesetzten Resultaten gelangte, daß die Hefen Froberg, Saaz und Carlsberg II. die Dextrose schneller vergären als die Lävulose.

Nach dem Bekanntwerden der Buchner'schen Resultate hat auf Veranlassung des Herrn Prof. Dr. Prior H. Schulze das Verhalten der Hefe gegen reine Dextrose- und Lävuloselösungen nochmals geprüft und ebenfalls konstatiert, daß Dextrose rascher vergoren wird als Lävulose.

Da diese Versuche demnächst veröffentlicht werden, unterlasse ich es, an dieser Stelle die möglichen Ursachen der entgegengesetzten Resultate Buchner's näher zu besprechen.

Nach diesen Ergebnissen genannter Forscher ist es höchst wahrscheinlich, daß die verschiedene Vergärungsschnelligkeit der einzelnen Zuckerarten wirklich nur von der Diffusionsschnelligkeit in die Hefe abhängt; doch schließen die Resultate von Gayon und Dubourg solange die Möglichkeit nicht aus, daß die Hefezelle auch ganz unabhängig von der Diffusionsgeschwindigkeit der Zucker eine aktive Auswahl unter den vergärenden Zuckern zu treffen vermag, welche durch besondere physiologische Zustände bedingt sein kann, bis eine Nachprüfung der Versuche von Gayon und Dubourg stattgefunden hat.

Durch die von mir gewählten, in dem folgenden Abschnitt beschriebenen Versuchsanstellungen habe ich zu entscheiden gesucht, in welcher Weise Dextrose und Lävulose in Gemischen, teils in gleichen, teils in verschiedenen Mengenverhältnissen vergoren werden; ferner ob die eine Zuckerart durch die andere ersetzbar ist, bezw. geschont oder erspart werden kann, und welchen Einfluß hierbei verschiedene Stickstoffernährung auszuüben vermag.

Experimenteller Teil.

Bei den im Nachfolgenden beschriebenen Versuchen wurden, um gleichartige miteinander vergleichbare Resultate zu erhalten:

- 1) Die Mengenverhältnisse der Dextrose und Lävulose;
- 2) die Hefeart,

1) Berichte der deutsch. chem. Gesellschaft. Bd. XXII. 1899. p. 2091.

2) Bayr. Brauerjournal. 1895. p. 374. Chemie und Physiologie des Malzes. p. 379.

- 3) der Vegetationszustand der Hefe,
- 4) die Anzahl der ausgesäten Zellen und
- 5) die Ernährungsbedingungen auf das sorgfältigste berücksichtigt.

Was nun den Punkt 1) Mengenverhältnisse der Zuckerarten anbelangt, so habe ich sowohl Versuche mit gleichen Teilen Dextrose und Lävulose, wie sie schon früher von Prior und Anderen angestellt worden sind, als auch solche mit Dextrose- und Lävuloseüberschuß ausgeführt. Zu den Versuchen mit Gemischen aus gleichen Teilen Dextrose und Lävulose habe ich reine Rohrzuckerlösungen benutzt, da bekanntlich der Rohrzucker schon vor Eintritt einer nennenswerten Gärung durch das Hefeinvertn in gleiche Teile Dextrose und Lävulose gespalten wird, während ich bei den anderen, bei welchen die eine oder andere Zuckerart im Ueberschuß angewendet werden sollte, bestimmte Mengen reiner Dextrose bezw. Lävulose der Rohrzuckerlösung zugefügt habe.

Bei allen Versuchen, die ich mit Saccharose unter steigendem Dextrosezusatz anstellte, waren die, sowohl durch Reduktion als auch durch Polarisation kontrollierten, genau bestimmten Mengenverhältnisse folgende:

- 1) Saccharose 6 Proz.,
- 2) Saccharose 6 Proz. + Dextrose 3 Proz.,
- 3) Saccharose 4,5 Proz. + Dextrose 4,5 Proz.,
- 4) Saccharose 2 Proz. + Dextrose 6 Proz.,
- 5) Saccharose 2 Proz. + Dextrose 8 Proz.

Umgekehrt führte ich auch Versuche von Saccharose mit gesteigertem Lävulosezusatz aus und wählte analog den eben genannten folgende Zuckermengen:

- 1) Saccharose 6 Proz. + Lävulose 3 Proz.
- 2) Saccharose 4,5 Proz. + Lävulose 4,5 Proz.
- 3) Saccharose 2 Proz. + Lävulose 8 Proz.

Die Dextrose die ich bei meinen Ausführungen verwandte, wurde chemisch rein von der Firma E. Merk in Darmstadt bezogen.

Die Lävulose, welche ich bei den letztgenannten Zuckervariationen zusetzte, wurde durch Umkrystallisieren aus Alkohol nochmals gereinigt; ebenso die Saccharose, wobei die schon öfters beschriebene, an der Versuchsstation in Nürnberg übliche Methode Landolt's Anwendung fand.

Die in dem jeweils gewünschten Verhältnis bereiteten Zuckerlösungen wurden in zuvor trocken sterilisierte, mit Watteverschluß versehene Kolben eingefüllt, mit dem stickstoffhaltigen Nährmittel — Hefewasserlösung oder Asparagin — versetzt und hierauf die Kolben nach Aufsetzen einer Gummikappe im strömenden Wasserdampfe sterilisiert. Um die Flüssigkeiten mit Sauerstoff zu sättigen, blieben die von der Gummikappe befreiten Kolben einige Tage unter häufigem kräftigen Umschütteln an der Luft stehen. Beim Anstellen der Versuche wurde die Watte mit einem sterilen sogen. U-Röhrchen vertauscht.

Als Versuchsobjekte benutzte ich gleich Prior die beiden Nürnberger Hefen L (Frohbergtypus) und A (Saaztypus) beides

untergärrige Hefen. Der Unterschied beider Hefen liegt nach Prior in dem verschiedenen Durchlässigkeitsvermögen ihrer Zellmembran, wodurch sich das verschiedene Verhalten unter gewöhnlichen Bedingungen gegenüber Bierwürze erklärt.

Bei allen Versuchen verwandte ich nur Reinkulturen junger, gärkräftiger Zellen von stets gleicher Beschaffenheit, also in demselben Vegetationszustande. Zu diesem Zwecke habe ich die Hefen für jede Versuchsreihe frisch gezüchtet, d. h. sterile Bierwürze mit 1—2 Tropfen der betreffenden Hefe geimpft und 24 Stunden bei 25° C im Thermostaten stehen gelassen. Von dieser frisch hergeführten Hefe wurde 1 Tropfen in 100 ccm steriles Wasser gegeben, durch möglichst langes und kräftiges Schütteln gleichmäßig verteilt und die Anzahl der Zellen mittels des Hefezählapparates, des sogen. Hämatimeters (Firma Zeiß, Jena) ermittelt. Die nun zum Impfen nötige Anzahl Zellen, bei meinen sämtlichen Versuchen waren es 23 Zellen, wurde berechnet und mit Hilfe einer sterilen Pipette der Gärflüssigkeit zugegeben. Alle diese Verrichtungen geschahen in einem sogen. Ueberführungskasten, der durch Auswaschen mit einer Sublimatlösung 1:1000 gegen eventuelle Infektion schützte. War nun der Gärkolben geimpft, so wurde wie oben schon angedeutet, ein U-Röhrchen-Verschuß steril auf ersteren aufgesetzt.

Die Bereitung des Hefewassers geschah in der bekannten Weise durch Auskochen der vollständig ausgewaschenen und hierdurch vom Zucker befreiten Hefe mit Wasser im Verhältnisse 1:10.

In dem Hefewasser wurde der Stickstoffgehalt nach der Kjeldahl'schen Methode, der Gehalt an flüchtigen und fixen Säuren nach Prior bestimmt.

Das spez. Gewicht war 1,0033, der Stickstoffgehalt 0,103 g und Extrakt 0,800 g in 100 ccm, während zur Neutralisation der Gesamtsäuren 8 ccm $\frac{1}{10}$ Normal NaOH erforderlich waren. Davon treffen auf die flüchtigen Säuren: 2,2 ccm $\frac{1}{10}$ NaOH, auf die fixen Säuren und sauren Phosphate: 5,8 ccm $\frac{1}{10}$ Normal NaOH.

Die Asparaginlösung wurde nach der Hayduck'schen Methode bereitet, indem 25 g Monokaliumphosphat, 8,5 g krystall. schwefelsaure Magnesia und 20 g Asparagin in einem Liter Brunnenwasser gelöst wurden.

Chemische Zusammensetzung der Asparaginlösung pro 100 ccm
Stickstoffgehalt: 0,0085 g.

Säuren direkt titriert: 4,8 ccm $\frac{1}{10}$ Normal-NaOH,

Säuren flüchtige titriert 2,0 ccm $\frac{1}{10}$ Normal-NaOH,

Säuren fixe titriert 3,0 ccm $\frac{1}{10}$ Normal-NaOH.

Den Gärflüssigkeiten wurde entweder 10-proz. Hefewasser oder 3 Proz. der oben erwähnten Asparaginlösung zugegeben.

Die Dauer der Gärwirkung betrug 2, 4, 6, 8, 10 und 28 Tage bei sämtlichen Versuchen.

(Schluß folgt.)

Die Organismen der Nitrifikation.

Von A. Stutzer.

Nachstehend erlaube ich mir über die Ergebnisse neuerer Untersuchungen zu berichten, welche auf die Organismen der Nitrifikation sich beziehen.

Zunächst sei es mir gestattet, eine persönliche Bemerkung zu machen. Im Jahre 1892 richtete ich in der damals von mir geleiteten landw. Versuchsstation zu Bonn ein Laboratorium für bakteriologische Forschungen ein, indem ich hoffte, eine Reihe von Gebieten auf diesem neuen Gebiete persönlich thätig sein zu können.

Später nahmen indes die in jenem Institute ausgeführten Arbeiten auf dem Gebiete der Agrikulturchemie allmählich einen solchen Umfang an, daß meine persönliche Bethätigung an bakteriologischen Untersuchungen in den Jahren 1896 und 1897 eine nur sehr geringe sein konnte. Leider sind in dieser Zeit bei den Arbeiten über die Nitrifikation, mit denen vorzugsweise ein Assistent beschäftigt war, Irrtümer vorgekommen. Da die Veröffentlichung der Resultate unter meiner Zustimmung geschah, trifft nur mich der Angriff, welcher in den Jahren 1898 und 1899 dagegen erfolgte.

Eine Wiederholung der Versuche, unter völligem Ausschluß fremder Hilfe, konnte ich nicht sogleich vornehmen, da ich im Frühjahr 1898 als Universitätsprofessor nach Breslau und später von dort nach Königsberg berufen wurde und nun andere Verpflichtungen zu erfüllen hatte. Erst in den letzten Monaten fand ich die nötige Zeit, um den sehr langwierigen Untersuchungen über die Nitrifikation ausschließlich mich widmen zu können. Dies glaubte ich zur Begründung des Umstandes mitteilen zu sollen, daß ich im „Centralblatt“ weitere Mitteilungen über die Nitrifikation, bezw. eine Richtigstellung früherer Annahmen bisher nicht gebracht habe.

Jeder, der mit nitrifizierenden Organismen sich beschäftigte, wird mir darin beipflichten, daß die Herstellung der Reinkulturen ganz außerordentliche Schwierigkeiten macht. Die betreffenden Mikroben wachsen auf den sonst üblichen Nährböden nicht oder nur höchst mangelhaft, sie können indes nach der Uebertragung auf solche Nährsubstrate längere Zeit lebensfähig bleiben, ohne daß eine Vermehrung oder eine Koloniebildung derselben stattfindet. Impft man von den entstandenen Kolonien die Bakterien ab und überträgt diese in eine mineralische Nährlösung, welche Nitrite oder Ammoniakverbindungen enthält, so tritt die Nitrit-, bezw. Nitratbildung in manchen Fällen ein, sie rührt aber nicht von den Koloniebildnern her, sondern von denjenigen Mikroben, welche auf jenen Nährböden lebensfähig blieben, indes nicht zur Koloniebildung schritten, und unterhalb der Kolonie auf dem

Nährboden lagerten. In dieser Hinsicht sind bekanntlich auch andere Forscher zu irrümlichen Annahmen gebracht und ist eine sorgfältige Revision der in der Litteratur bekannt gegebenen Eigenschaften der nitrifizierenden Organismen sehr erwünscht.

A. Der Nitratbildner.

1) Die Reinzucht. Die von mir benutzte Nährlösung enthält in einem Liter: 2 g Natriumnitrit, 1 g Bikaliumphosphat, 0,3 Magnesiumsulfat, 0,5 g Natriumchlorid, 0,5 g Kaliumkarbonat. Ungefähr je 10 g guter Gartenerde wurden in Kolben mit flachem Boden gebracht und mit so viel von der Nährlösung übergossen, daß die Flüssigkeitsschicht 1—2 cm hoch ist. Man schüttelt gut um, schließt die Gefäße mit einem Wattestopfen und läßt die Gläser mehrere Wochen lang in einem auf 25—30 Grad erwärmten Thermostaten stehen. Sobald eine mit einer Platinöse herausgenommene kleine Menge der Flüssigkeit in Jodzinkstärkekleister keine Blaufärbung mehr hervorbringt, giebt man für je 100 ccm der ursprünglich verwendeten Flüssigkeitsmenge 0,02 g Natriumnitrit in Lösung neu hinzu und wiederholt diese Zusätze im Laufe der nächsten Wochen mehrere Male.

Der Nitratbildner hat sich nun so vermehrt, daß man ihn auf Agarplatten isolieren kann. Der zu verwendende Nähragar enthält nur die oben angegebenen Mineralstoffe. Je 10 ccm des geschmolzenen Agars werden mit einer Oese voll von der Nitratbildnerkultur geimpft und die üblichen Verdünnungen gemacht. Die hiermit beschickten Petri-Schalen stellt man umgekehrt, d. h. mit dem Agarnährboden nach oben, in feuchte Kammern und diese in einen auf 25—30 Grad erwärmten Thermostaten. In den Petri-Schalen wird bei diesem Verfahren kein Wasser ausgeschieden und die Platten können mindestens zwei Monate lang beobachtet werden, ohne daß eine Austrocknung des Nährbodens stattfindet.

Zum Abimpfen der Kolonien ist die erste Platte immer unbrauchbar, weil hier eine zu große Anzahl von Kolonien sich bildete. Man nimmt besser die erste Verdünnung und wartet, bis ein kleiner herausgenommene Teil des Nährbodens mit Jodzinkstärkelösung keine Reaktion auf Nitrit mehr giebt. Dies pflegt nach 4 bis 6 Wochen einzutreten. Man benutze die kleinsten Kolonien, welche auf der Platte vorhanden sind, da die größeren aus fremden Arten bestehen. Das Abimpfen geschieht bei 100- bis 150-facher Vergrößerung, und zwar mit einem kapillarförmig ausgezogenen Glasrohr. Der untere Teil des Glasrohres wird mit den anhängenden Teilen der Kolonie in eine Nährlösung gebracht, welche, wie oben angegeben, zusammengesetzt ist.

Hat nach Verlauf mehrerer Wochen eine Oxydation des Nitrits stattgefunden, und ist nach wiederholten Zusätzen von Nitrit auch dieses oxydiert, so kann man dazu übergehen, die Kulturen auf ihre Reinheit weiter zu prüfen. Eine Platinöse voll von der Kultur wird in je 10 ccm alkalischer Fleischbouillon übertragen, oder in 10 ccm einer filtrierten, sterilen Lösung, welche in 1 Liter enthält: 5 g Fleischextrakt Liebig, 5 g Pepton, 0,5 g Kaliumkarbonat.

Der Nitratbildner trübt diese Flüssigkeit nicht, wenn solche 2 Wochen lang in einem Thermostaten aufbewahrt wird, dessen Temperatur ungefähr 30 Grad beträgt.

Es genügt nicht, die Beobachtungsdauer auf nur einige Tage zu beschränken, indem häufig erst nach dem Ablauf der ersten Woche die etwa vorhandenen fremden Organismen eine Trübung der Flüssigkeit veranlassen.

Diejenigen Kulturen, welche als „bouillonsteril“ befunden sind, werden dann einer genauen mikroskopischen Prüfung unterworfen, da der Nitratbildner nicht der einzige „bouillonsterile“ Organismus ist. (Die Form des Nitratbildners wird weiter unten beschrieben.) Ergiebt auch die mikroskopische Untersuchung einheitliche Formen, so werden neue Uebertragungen auf Nitritagar gemacht.

2) Die Kolonien auf Nitritagar. Beobachtet man 3 bis 4 Wochen nach der geschehenen Impfung die auf Nitritagar entstandenen Kolonien, so sieht man sehr kleine, runde Tröpfchen, die wasserhell oder von schwach grünlicher Farbe sind. Die Kolonien sind scharf umrandet und zart gekörnt. Die Strichkulturen auf Nitritagar zeigen auch nach längerer Zeit (nach 3—4 Monaten) keinen zusammenhängenden Strich, sondern es bestehen einzelne, nicht ineinander fließende Kolonien in großer Zahl nebeneinander. Die Entwicklung des Striches bleibt stets eine sehr geringe.

Die Tiefenkolonien im Nitritagar entwickeln sich außerordentlich langsam und erscheinen bei der mikroskopischen Untersuchung als braune, scharf umrandete Kolonien von Nieren- oder Spindel-form, oft sind sie herzförmig.

3) Die Form der Organismen. Bei einer Beschreibung der Formen hat man zu beachten, ob die Organismen in flüssigen oder auf festen Nährsubstraten gewachsen sind, und ob die auf dem letzteren erhaltenen Kolonien alt oder jung sind. Mit zunehmendem Alter und bei der Erschöpfung des Nährbodens an Nitrit ändert sich das Bild, welches man nach der Färbung mit Karbolfuchsin erhält, ein wenig. Untersucht man zu gleicher Zeit ältere und jüngere Strichkulturen auf Nitritagar, so kann man zu der Annahme geführt werden, daß man Organismen von nicht völlig gleicher Beschaffenheit vor sich hat. Gleichaltrige Kulturen zeigen dagegen dieselben Formen.

Wässrige Anilinfarben wirken auf den Nitratbildner nicht ein. Loeffler's alkalische Lösung von Methylenblau hat ebenfalls keine Einwirkung, wenn die Organismen aus nitrithaltiger Nährlösung oder von relativ jungen Strichkulturen entnommen waren. Ist die Strichkultur mehrere Monate alt, so färbt Loeffler's Methylenblau äußerst kleine Körnchen, von denen je eins im Innern einer Zelle liegt. Die Umrisse der Zelle sind durch dieses Färbemittel kaum angedeutet.

Vortrefflich eignet sich zur Färbung das Karbolfuchsin. Man nehme die Organismen aus flüssigen, nitrithaltigen Kulturen oder von relativ jungen Strichen (Agarkultur), da die Mikroben sich dann gut erkennen lassen. In alten Kulturen kann bei Mangel an Nitrit das Protoplasma sich zusammengezogen haben und er-

scheinen dann (nach der Färbung mit Karbolfuchsin) die Umriss der Zellen bisweilen nicht genügend scharf. In solchen alten Kulturen hat die Hülle der Mikroben eine Länge von 1 bis 1,5 μ und eine Breite von 0,8 μ . In der Mitte dieser Hülle oder an einem Polende liegt ein rundes Körnchen von 0,2 μ Durchmesser.

Untersucht man die in Nitritlösung gewachsenen Organismen, oder entnimmt man diese von jüngeren Kolonien, so erhält man folgendes Bild:

Die Form ist eine gestreckte Zelle, bei der nicht immer, aber häufig das eine Ende (bei 1000- oder 1500-facher Vergrößerung) verjüngt erscheint. Diejenigen Zellen, welche nicht in Teilung begriffen sind, haben eine Länge von 1 bis 1,5 μ und eine gleichbleibende Breite von ungefähr 0,8 μ . Die längeren Mikroben besitzen hin und wieder einen kleinen, oft gekrümmten, ovalen Ansatz, der bisweilen nur lose mit dem größeren Mutterkörper zusammenhängt. In diesem Zustande der Lostrennung haben die Organismen eine Länge von mehr als 1,5 μ , meist 2, bisweilen sogar von 2,5 μ . Man kann dann nicht mehr von einem einheitlichen Körper sprechen, sondern es ist eine Tochterzelle vorhanden, die mit dem Mutterkörper lose zusammenhängt. Diese Art der Vermehrung erinnert an die Sprossung von Hefezellen und nicht an die Vermehrung von Bakterien.

Der mit Karbolfuchsin gefärbte junge Sproß hat bisweilen eine dunklere Farbe als der Mutterkörper und dürfte dies dadurch veranlaßt sein, daß in dem Sproß das Plasma dichter gelagert ist.

Die Art der Vermehrung ist namentlich im hängenden Tropfen gut zu beobachten, wenn man dabei einen Mikroskopbrutschrank benutzt, dessen Temperatur auf ungefähr 30 Grad eingestellt wurde. Es empfiehlt sich, diese Beobachtungen bei 1500-facher Vergrößerung unter Benutzung der Oelimmersion zu machen.

4) Das Verhalten des Nitratbildners gegen organische Nährstoffe, gegen Ammoniak und Salpeter. Der Nitratbildner ist nicht imstande, Ammoniaksalze zu oxydieren. Gibt man ihm, außer den geeigneten mineralischen Nährsalzen, den Stickstoff in Form von Salpeter, so kann das Mikrobium notdürftig sein Leben fristen, indes kommt es nicht zu einer reichlichen Vermehrung. Diese erfolgt nur dann, wenn der Nitratbildner gleichzeitig physiologisch wirksam sein und das Nitrit in Nitrat überführen kann.

Diejenigen organischen Substanzen, welche für eigentliche Bakterien ein vor*effliches Nährmaterial liefern, wie die verschiedenen Zuckerarten, Glycerin, die Salze gewisser organischer Säuren, Pepton, Fleischbouillon, Gelatine, sind teils direkte Gifte für den Nitratbildner, oder, falls derartige Stoffe in nur minimaler Menge angewendet wurden, verzögern sie die Ueberführung des Nitrits in Nitrat in erheblicher Weise. Dies schließt nicht aus, daß der Nitratbildner in Lösungen gewisser organischer Substanzen, beispielsweise in Nährgelatine, längere Zeit lebensfähig bleibt, ohne sich hier in merkbarer Weise zu vermehren, um nach der Ueber-

tragung in günstiger wirkende Nährböden seine nitrifizierende Wirkung wieder aufzunehmen.

Es gibt gewisse Substanzen organischen Ursprungs, die recht indifferent sind. Beispielsweise verzögert der Mannit, zu einer Nitritlösung hinzugegeben, die Ueberführung in Nitrat in viel geringerem Maße, wie Glycerin. Eine Abkochung von humoser Gartenerde oder eine Abkochung von Torf scheint die Nitrifikation sogar ein wenig zu beschleunigen, allerdings ist nicht erwiesen, ob hierbei die organische Substanz oder andere Bestandteile dieser Materialien beschleunigend wirken.

Die Lebensbedingungen des Nitratbildners sind ferner abhängig von der Reaktion des Nährbodens, von der Kohlensäure und der Wärme. Hierüber habe ich in den letzten Monaten keine neuen Untersuchungen ausgeführt, und erlaube ich mir ganz kurz über diesbezügliche Versuche zu referieren, welche in Heft 2 der „Mitteilungen der landw. Institute der Universität Breslau“. p. 218 bis 227 angegeben wurden.

Gegen die saure Reaktion des Nährbodens ist der Nitratbildner sehr empfindlich. Er wächst bei neutraler Reaktion, jedoch am besten bei einer schwach alkalischen Beschaffenheit des Nährbodens (entsprechend 0,05 Proz. K_2CO_3). Auch bei 0,1—0,3 Proz. Alkalikarbonat geht die Nitrifikation gut von statten. Bei höherem Gehalt wird sie allmählich verzögert und erlischt sie bei mehr als 1,0 Proz. vollständig.

Als Kohlenstoffquelle verwertet der Nitratbildner nur Kohlendioxyd, also die sogen. freie Kohlensäure. Schließt man diese aus und giebt als Kohlenstoffquelle nur lösliche Alkalikarbonate oder unlösliches Kalciumkarbonat, so tritt keine Umbildung des Nitrits in Nitrat ein. Der Nitratbildner verhält sich also genau so, wie dies früher von Godlewsky für den Nitritbildner nachgewiesen ist.

Auf die Wirkung des Nitratbildners hat die Temperatur einen großen Einfluß. Das Optimum liegt bei ungefähr 35°. Beträgt die Temperatur weniger als 15°, so wird die Nitratbildung erheblich verzögert. Ich teile folgende Zahlen mit: Die Versuche sind unter völlig gleichen Bedingungen ausgeführt, mit Ausnahme der Temperatur, welche verschieden war. Durch eine Erwärmung auf 50° während 24 Stunden waren die Organismen getötet.

War die Wärme:

35°
30—25°
20—15°
15—10°
10—1°

so fand die Oxydation nach Verlauf von
2 Tagen statt

4—5 „ „
8—10 „ „
3—4 Wochen

Befund: Nach 4 Wochen hatte keine Oxydation stattgefunden, die Organismen blieben aber lebensfähig und oxydierten, sobald die Kulturen warm gestellt wurden.

Bei weiteren Versuchen wurden flüssige Kulturen einer Temperatur von minus 10—12° ausgesetzt, dann 24 Stunden lang bei einer nur wenig über 0° liegenden Temperatur belassen und all-

mählich erwärmt, schließlich bis auf 35°. Die Organismen waren in ihrer Wirkung ungeschwächt geblieben.

Aus den mitgeteilten Zahlen ersieht man, daß die Wärme jedenfalls einen großen Einfluß auf die Nitrifikation hat. Die nötige Energie zur Assimilation des Kohlendioxyds dürfte zweifellos auf chemosynthetischem Wege den Organismen zur Verfügung gestellt werden, indem die hierbei stattfindenden Prozesse exotherm verlaufen, es wird bei der Oxydation und bei der Neutralisation der Salpetersäure Energie frei. Auch ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß außerdem die von außen den Organismen zugeführte Wärme imstande ist, den merkwürdigen Assimilationsvorgang des Nitratbildners zu unterstützen, jedoch gebe ich zu, daß es schwierig sein dürfte, die bestimmten Beweise für eine solche Annahme zu erbringen.

Während die eigentlichen Bakterien zu solchen Organismen gehören, deren organische Nahrung ursprünglich in der Chlorophyllhaltigen Zelle aus anorganischem Material unter Mitwirkung von Sonnenlicht entstand, gehört der Nitratbildner zu Lebewesen, welche die organischen Stoffe ohne die Hilfe des Chlorophyllapparates und ohne Mitwirkung von Sonnenlicht selbst erzeugen. Ich möchte daher den Nitratbildner nicht als „Nitrobakter“ bezeichnen, wie von Winogradsky geschehen, zumal auch die Art der Vermehrung von derjenigen der Bakterien verschieden zu sein scheint, ich glaube, daß der Nitratbildner in eine besondere Gruppe von Organismen gehört, und halte die Bezeichnung „Nitromikrobium“ für richtiger.

Anscheinend existiert nur eine Art von Nitromikrobium und erwiesen sich die von mir aus schlesischer und ostpreußischer Erde gezüchteten Mikroben mit denen identisch, welche Herr Prof. Winogradsky mir zu senden die Güte hatte. Die letzteren waren aus russischer, deutscher und französischer Erde gezüchtet. Ich habe die verschiedenen Kulturen monatelang unter den gleichen Ernährungsbedingungen fortgezüchtet und konnte ich eine völlige Uebereinstimmung der Organismen konstatieren.

Verschiedenheiten traten nur dann ein, wenn man eine ältere Strichkultur auf Nitritagar mit denen einer jungen Kultur verglich. Unter gleichen Ernährungsbedingungen waren die Formen der Mikroben stets dieselben.

B. Der Nitritbildner.

1. Die Nährsubstanzen.

Der einzige Forscher, der die Reinzucht des Nitritbildners genauer beschrieben hat, ist Winogradsky, bezw. dessen Mitarbeiter Omeliansky. Die von mir benutzte Nährsubstanz hat eine andere Zusammensetzung wie diejenige von Winogradsky, indem ich phosphorsaure Ammoniakmagnesia und keine löslichen Ammoniaksalze verwende.

Zunächst stellte ich 2 Nährflüssigkeiten her, welche nach dem Sterilisieren und nach dem Erkalten zu gleichen Teilen gemischt wurden. Die Mischung 1 enthielt in 1 Liter: 2 g Bikaliumphosphat,

0,5 g Chlornatrium, 20 g trockene phosphorsaure Ammoniakmagnesia. (Die letztere hatte ich teils selbst hergestellt, teils habe ich solche von Merck-Darmstadt bezogen.)

Die Mischung 2 enthielt in 1 Liter: 0,5 g Ferrosulfat und 20 g Magnesiakarbonat. Von der Mischung 1 wurden je 50 oder 100 ccm in Flachkolben gebracht und nach dem Sterilisieren die Mischung 2 mittels steriler Pipetten hinzugesetzt.

Später habe ich die phosphorsaure Ammoniakmagnesia und das Magnesiumkarbonat in einer Reibschale gemischt, hiervon einen ganzen oder einen halben Theelöffel voll in Flachkolben geschüttet, 50—100 ccm einer Lösung von 1 g Bikaliumphosphat, 0,25 g Chlornatrium und 0,25 g Ferrosulfat hinzugegeben und nun das Ganze sterilisiert. Ein Teil des Ammoniaks entweicht allerdings bei diesem Verfahren, indes bleibt eine für die Mikroorganismen hinreichende Menge davon zurück.

Die Flüssigkeit reagiert durch das Vorhandensein von Ammoniumkarbonat alkalisch. Um die Empfindlichkeit des Nitritbildners gegen die alkalische Reaktion des Ammoniumkarbonates festzustellen, wurde folgender Versuch gemacht: Zu einer sterilisierten Flüssigkeit, welche im Liter enthielt: 1 g Bikaliumphosphat, 0,25 g Chlornatrium, 0,25 g Ferrosulfat und 10 g Magnesiumkarbonat sind steigende Mengen einer sterilen Lösung von Ammoniumsulfat hinzugegeben und wurden die einzelnen Kulturen dann mit nitritbildenden Organismen geimpft. Nach Zugabe von 0,5 und 0,75 Proz. Ammonsulfat erfolgte die Nitritbildung in normaler Zeit. Bei einem Gehalte von 1 Proz. Ammonsulfat blieb sie aus. Jene 0,75 Proz. Ammonsulfat entsprechen ungefähr 0,2 Proz. NH_3 .

Die zu den Kulturen benutzte sterilisierte Nährlösung enthält eine wesentlich geringere Menge von NH_3 in Form von Ammonkarbonat. Die hiermit ausgeführten Titrierversuche ergaben folgendes: Die 3mal sterilisierte und dann vollständig erkaltete Flüssigkeit hatte nach dem Filtrieren eine Alkalität, welche 0,053 Proz. NH_3 entsprach. Nach vierwöchentlichem Stehen der ungeimpften Flüssigkeit war er 0,03 Proz. nachzuweisen.

Bei der Verwendung der phosphorsauren Ammoniakmagnesia als stickstoffhaltiges Nährmaterial habe ich den Vorteil, daß ich eine größere Menge einer Ammoniakverbindung nehmen kann, ohne daß eine zu starke alkalische Reaktion eintritt.

Auch bei der Herstellung fester Nährböden benutzte ich die phosphorsaure Ammoniakmagnesia. In ziemlich weite Reagenzgläser wird je ein halber Theelöffel voll von einer Mischung gleicher Teile phosphorsaurer Ammoniakmagnesia und Magnesiumkarbonat eingeschüttet und 10—15 ccm einer geschmolzenen Agarlösung hinzugefügt, welche in 1 l enthält: 10 g Agar, 1 g Bikaliumphosphat, 0,5 g Chlornatrium, 0,5 g Ferrosulfat. Die Mischung wird sterilisiert und zur Herstellung von Plattenkulturen benutzt. Ebenfalls für Strichkulturen. Im letzteren Falle läßt man die dickflüssige Masse bis auf 40° im Wasserbade erkalten, schüttelt nun die Flüssigkeit gut um und läßt die Gläser in geeigneter Lage in Eiswasser schnell erkalten. Auf diese Weise bleibt der größte Teil der nicht lös-

lichen Ammoniumverbindungen in dem Nährboden gleichmäßig suspendiert, während beim langsamen Erkalten die nicht löslichen Substanzen vorzugsweise am Boden des Gefäßes sich ansammeln.

Hin und wieder ist auch die Kieselgallerte (nach Vorschrift von Omeliansky) von mir verwendet. Verfährt man genau nach der gegebenen Vorschrift, so erhält man eine gut erstarrende Gallerte. Das Arbeiten mit derselben ist bei Reinzuchtversuchen insofern unbequem, weil häufig die Masse sehr weich bleibt, oder im anderen Falle wird durch austretendes Wasser einer Verbreitung fremder Organismen nach geschehener Impfung Vorschub geleistet, so daß oft die ganze Oberfläche durch fremde Mikroben verunreinigt ist. Nach Angabe von Omeliansky soll das Ammoniak in dem Nährboden dadurch angereichert werden, daß man Segmente aus dem Nährboden ausscheidet und in diese von Zeit zu Zeit Ammoniumsulfatlösung eingießt, nachdem vorher die alte Flüssigkeit entfernt wurde. Bei Verwendung meines Nährbodens ist eine solche Anreicherung nicht nötig.

2. Die Reinzucht und die Koloniebildung.

Von der Nährlösung, welche die phosphorsaure Ammoniakmagnesia enthält, gießt man 50 oder 100 cc in Flachkolben und fügt geringe Mengen einer guten Gartenerde hinzu. Die mit Wattestopfen geschlossenen Kolben werden in einen auf ungefähr 30° erwärmten Thermostaten gestellt und läßt man sie hier einige Wochen lang verweilen. Ergiebt die chemische Prüfung nun das Vorhandensein reichlicher Mengen von Nitrit, so überträgt man eine Platinöse voll von der Flüssigkeit in eine neue Nährlösung von gleicher Zusammensetzung, wie die bisher benutzte. Nach Verlauf mehrerer Wochen nimmt man eine weitere Uebertragung vor und pflegen nun die fremden Organismen soweit zurückgedrängt zu sein, daß man unter Benutzung des vorhin angegebenen Agarnährbodens Platten gießen kann.

Die auf Agar entstehenden Kolonien werden zweckmäßig erst 4 Wochen nach der Impfung zur Uebertragung in ein flüssiges Nährmedium verwendet. Sie erscheinen auf den Platten, bei 100—150-facher Vergrößerung beobachtet, als recht kleine, scharf umrandete Gebilde von nicht ganz regelmäßiger Form, jedoch nahezu rund. Die auf Kieselgallerte erhaltenen Kolonien haben ungefähr die gleiche Form. Das Abimpfen geschieht bei 100—150-facher Vergrößerung mittels feiner Capillarrohrchen. Man muß eine große Zahl von flüssigen Kulturen anlegen, indem es oft nicht möglich ist, fremde Organismen beim Ausstechen der auf Agar entstandenen sehr kleinen Kolonien auszuschließen und ist dann bei der späteren Prüfung der flüssigen Kulturen immer ein Teil der Kulturen verunreinigt und nicht „bouillonsteril“.

Will man von der Kieselgallerte ausgehend zu Reinkulturen gelangen, so empfiehlt es sich nach meinen Erfahrungen, solche Teile von der Platte mit dem Kapillarrohr zu entnehmen, auf denen bei 150-facher Vergrößerung Kolonien nicht zu sehen sind. Die Nitritmikroben scheinen auf diesem eigentümlichen Nährboden die Eigenschaft zu haben, sich auch ohne Koloniebildung zu verbreiten,

während fremde Arten nach Verlauf mehrerer Wochen viel eher zur wirklichen Koloniebildung schreiten. Nur durch die indirekte Methode ist es mir bisher gelungen, von der Kieselgallerte ausgehend, zu wirklichen Reinkulturen zu kommen.

Die geimpften Flüssigkeiten stellte ich nun in einen Thermostaten, dessen Temperatur ungefähr 30° beträgt. Nach einigen Wochen wird je eine Platinöse voll von der Flüssigkeit in Jodzinkstärkekleister übertragen, um zu sehen, ob eine starke Nitritreaktion eintritt. Geschieht dies, so prüft man die vorhandenen Organismen mikroskopisch auf ihre Reinheit und stellt fest, ob sie schwach alkalisch reagierende Fleischbouillon nicht trüben. Der Nitritbildner hat in gleicher Weise wie der Nitratbildner die Eigenschaft, in Fleischbouillon nicht zu wachsen, während alle eigentlichen Bakterien darin gedeihen und die Flüssigkeit trüben. Man läßt die geimpfte Bouillon 2 Wochen lang in einem auf ungefähr 30° erwärmten Thermostaten stehen, da die Trübung oft erst nach Verlauf einer Woche eintritt.

In den Nährflüssigkeiten, welche phosphorsaure Ammoniakmagnesia enthalten, findet man den Nitritbildner an der Oberfläche der Flüssigkeit, aber auch in dem am Boden liegenden Schlamm von Magnesiaverbindungen. Winogradsky machte die Beobachtung, daß die Mikroben sich gerade in dem Schlamm aufhalten und hier zur Bildung von Zoogloen Anlaß geben. Die Ursache des diesbezüglichen Unterschiedes mit meinen Beobachtungen dürfte wesentlich in der Beschaffenheit des Nährsubstrates liegen, welche bei meinen Versuchen durch den Gebrauch reichlicher Mengen von phosphoraurer Ammoniakmagnesia eine andere ist, als bei der von Winogradsky verwendeten Nährlösung.

3. Die Form der Mikroben.

Die Mikroben sind nicht völlig rund und nicht gleich groß. Ihre Breite beträgt meist $0,7 \mu$, selten 1μ , die Länge $1-1,25 \mu$. Hin und wieder erkennt man in den gefärbten Präparaten (bestes Färbemittel ist Karbolfuchsin), daß bei den lang gestalteten Organismen eine Zweiteilung beginnt, indem diese in der Mitte eine hellere Zone haben. Die Vermehrung geschieht in der Weise, daß die Zellen in der Längsrichtung sich strecken, und findet dann eine Teilung wie bei den eigentlichen Bakterien statt. Eine Bewegung der Mikroben wurde nicht beobachtet.

4. Das Verhalten des Nitritbildners zu organischen Nährstoffen.

Der Nitritbildner gedeiht nicht in Fleischbouillon oder in einer Lösung, welche in 1 l enthält: 5 g Fleischextrakt Liebig, 5 g Pepton, $0,5$ g Kaliumkarbonat. Ferner wächst er nicht auf Nährgelatine, nicht in Glukoselösung und in sonstigen für die Kultur von Bakterien angewendeten Lösungen organischer Substanzen. Sind nur geringe Mengen organischer Stoffe zugegen, so wird die Nitritbildung verzögert. Harnstoff, Asparagin und dergl. werden nicht nitrifiziert.

5. Vergleich mit den Angaben von Winogradsky.

Meine Beobachtungen stimmen mit den Angaben von Winogradsky im allgemeinen gut überein. Nur in gewisser Hinsicht habe ich kleine Abweichungen gefunden.

Erstens die Beweglichkeit. Winogradsky giebt an, daß die Mikroben in der Regel ein bewegliches Monadenstadium und ein unbewegliches Zoogloenstadium haben. Als Monaden haben die Organismen eine Cilie, die bisweilen eine außerordentliche Länge hat. Der langsam bewegliche Organismus, welchen Winogradsky aus exotischen Erden züchtete, hatte einen Durchmesser von 0,5–0,6 μ , die Länge der Cilie war bis zu 30 μ . Die europäischen Arten besaßen im Gegensatz zu den exotischen eine sehr kurze Cilie, dagegen eine große Beweglichkeit. Bei dem großen Megalococcus von Quito wurde weder Beweglichkeit noch das Vorhandensein einer Cilie bestimmt nachgewiesen. Omeliansky berichtet aus neuerer Zeit, daß der Petersburger Nitritbildner keine Beweglichkeit hätte, während diejenigen aus Frankreich (Gennevilliers) sehr beweglich waren. Die Existenz einer Cilie wird in den neueren Berichten von Winogradsky und Omeliansky überhaupt nicht mehr erwähnt.

Aus allen diesen Angaben geht hervor, daß die aus Erden verschiedener Herkunft gezüchteten Mikroben in Bezug auf die Beweglichkeit ein abweichendes Verhalten zeigen. Die von mir isolierten Mikroben haben in Uebereinstimmung mit denjenigen von Quito weder eine Cilie noch Beweglichkeit.

Zweitens ist die Nichtbildung von Zoogloen zu erwähnen. Auch in dieser Hinsicht sind die Angaben von Winogradsky sehr verschieden, je nach dem Ursprunge der Mikroben. Beispielsweise wird erwähnt, daß der Nitritbildner aus Zürich Zoogloen von außerordentlicher Größe und Festigkeit in Nährflüssigkeiten bildete, während diese Eigenschaft den Mikroben von Genevilliers nicht zukam. Die aus exotischen Erden gezüchteten Mikroben bildeten Zoogloen, die so sehr zusammenhingen, daß man die einzelnen Individuen nicht erkennen konnte. Die großen Organismen aus Quitoerde, welche Winogradsky als Megalococcus bezeichnete, hatten nicht die Fähigkeit Zoogloen zu bilden. Omeliansky fand, daß die Petersburger Mikroben kein ausgesprochenes Zoogloenstadium haben.

Die von mir untersuchten Mikroben bildeten in meiner Nährflüssigkeit keine Zoogloen, und stimmen sie somit in dieser Hinsicht mit denjenigen von Quito und von Petersburg überein. Nach meiner Ansicht dürfte die Fähigkeit, Zoogloen zu bilden, nicht nur eine spezifische Eigenschaft der betreffenden Organismen sein, sondern auch wesentlich von der Beschaffenheit des Nährsubstrates und von dessen Gehalt an Ammoniak abhängig sein. Die bewegliche Monadenform blieb nach den Angaben von Winogradsky längere Zeit bestehen, wenn von Zeit zu Zeit Ammoniak zu der Nährflüssigkeit hinzugesetzt wurde. War das Ammoniak verbraucht, so fand Winogradsky bei denjenigen Mikroben, welche über-

haupt fähig waren Zoogloen zu bilden, die letzteren in reichlicher Menge vor.

In der von mir verwendeten Nährflüssigkeit ist relativ viel Ammoniak vorhanden. Ich lasse dahingestellt, ob die Mikroben aus diesem Grunde überhaupt keine Neigung zur Zoogloenbildung hatten, oder ob solche eine spezifische Eigenschaft meiner Organismen auch bei anderen Ernährungsverhältnissen ist.

Drittens erwähne ich die Größe der Mikroben. Auch diese ist nach den Angaben von Winogradsky verschieden. Der Organismus von Zürich wird als eine oval-elliptische Mikrobe angegeben, deren kleinere Formen, in Flüssigkeit kultiviert und später mit Anilinfarbstoffen gefärbt, einen Durchmesser von 0,9—1,0 μ hatten. Größere Mikroben hatten einen Durchmesser von 1,2 μ , bisweilen auch bis zu 1,8 μ , indes war im letzteren Falle der Organismus bereits in Teilung begriffen. Die Form der Organismen ist nach den Beobachtungen von Winogradsky bei energischem Wachstum rund, bei langsamem herrschen die länglichen Formen vor.

In der Größe stimmen die von mir isolierten Organismen mit denjenigen von Zürich überein, und zeigt auch das Photogramm, welches Winogradsky von den Züricher Mikroben giebt, genau mit den meinigen überein.

Physiologisches Verhalten.

Nach den Beobachtungen von Winogradsky haben die europäischen Arten ein besseres Nitrifikationsvermögen als die meisten der außereuropäischen. Ich habe in dieser Hinsicht keine vergleichenden Versuche angestellt, da es mir zunächst darauf ankam, die außerordentlich schwierigen Methoden der Reinzucht zu studieren und die allgemeinen Lebensbedingungen des Nitritbildners mit den Erfahrungen von Winogradsky zu vergleichen. Nachdem dieses geschehen und nachdem in Bezug auf das Verhalten der Organismen zu den verschiedenen Nährsubstraten eine gute Uebereinstimmung mit den Erfahrungen von Winogradsky festgestellt ist, würde es vielleicht von Interesse sein, nach solchen Nitritbildnern zu suchen, welche die Fähigkeit haben, das ihnen zur Verfügung stehende Ammoniak nicht nur schnell zu oxydieren, sondern diese Arbeit auch bei relativ niedrigen Temperaturen vollziehen zu können.

Aus den bisherigen Untersuchungen scheint hervorzugehen, daß von dem Nitritbildner mehrere Spielarten existieren, welche sowohl morphologisch (durch ihre Größe, ihre Beweglichkeit, Zoogloenbildung u. s. w.), wie auch physiologisch (durch die Intensität der Nitrifikation) sich unterscheiden. Es erscheint durchaus wünschenswert, daß recht viele Forscher an weiteren Untersuchungen über die Nitrifikation sich beteiligen.

Agrikulturchemisches Institut der Universität Königsberg,
Oktober 1900.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Kenntnis der Baumflüsse und einiger ihrer Bewohner.

Von Dr. **Wilhelm Holtz** in Freiburg i. Br.

Mit 2 Tafeln und 6 Abbildungen.

(Fortsetzung.)

III. Die Flora der Saft- und Schleimflüsse.

Nach Ludwig's Darstellung stehen die zu Tage tretenden stofflichen Veränderungen des Baumsaftes in innigem Zusammenhang mit der angeblichen subcorticalen Pilzwucherung selbst; mit anderen Worten, sie sollen auch Folge der Thätigkeit der bezeichneten Mikroorganismen sein. Nachdem wir nun im Vorhergehenden gezeigt, daß diese letzteren einen parasitären Charakter nicht besitzen, erübrigt es noch, zu untersuchen, ob Grund vorhanden ist, die sekundären stofflichen Umsetzungen, wie sie in dem Baumsafte nach seinem Austritt vor sich gehen, wie es Ludwig annimmt, als Folge der Thätigkeit gewisser Mikroorganismen ausschließlich anzusehen.

Dem Gedanken, daß sich Mikroorganismen an den sekundären physikalischen und chemischen Veränderungen in dem hervorgetretenen Baumsafte beteiligen, wird man sich wohl kaum verschließen können. Enthält letzterer doch eine nicht geringe Quantität von Stoffen, wie Kohlehydrate, Eiweißkörper etc., die von den verschiedensten Mikroorganismen assimiliert werden können. Die fortgesetzte Verdunstung des Wassers bei kontinuierlichem Saftzufusse muß aber zu einer Anhäufung dieser Stoffe um die Ausflußöffnung herum führen, wodurch zweifellos die Existenzbedingungen für eine große Reihe von Organismen in erhöhtem Maße gegeben sind. Die Keime dieser letzteren können dann auch, nach den äußeren Verhältnissen, unter denen sich die Baumflußerscheinungen abspielen, zu schließen, unschwer zu dieser Nährstoffquelle gelangen und werden dort, je nachdem sie ihnen zusagt, in verschiedenem Grade ihr Gedeihen finden. Sie können offenbar bei besonders üppigem Wachstum allein schon durch ihre massenhafte Anhäufung Unterschiede in Farbe und Konsistenz, sicherlich aber durch ihren Stoffwechsel tiefgreifende Veränderungen im Baumsafte veranlassen. Es fragt sich hierbei nur, ob, wie dies Ludwig verfißt, gewisse stoffliche Veränderungen an ganz bestimmte Mikroorganismenarten gebunden sind, oder ob Hansen's Vermutung, daß in den schleimigen Produkten das Gesamtergebnis sämtlicher mitwirkender Faktoren, deren es eine nicht geringe Menge giebt, vorliegt, mehr Wahrscheinlichkeit für sich hat. Ludwig's diesbezügliche Anschauung basiert offenbar auf der vielfach gemachten Beobachtung, daß sich zwar einerseits im ganzen große Verschiedenheiten in den sekundären Umsetzungen

konstatieren lassen, andererseits aber im besonderen eine gewisse Regelmäßigkeit im Auftreten einzelner dieser Vorgänge wahrzunehmen ist. Wenn auch letztere im allgemeinen lange nicht in so ausgeprägter Form zum Vorschein kommt, wie es Ludwig angiebt, so ist sie doch unverkennbar vorhanden, denn dem Auftreten von Gärungserscheinungen, der Bildung von weißer gallertiger, von brauner oder schwarzer Schleimsubstanz liegen offenbar wesentlich verschiedene Umsetzungsprozesse zu Grunde. Haben wir es nun in jedem Falle nur mit einer einzelnen oder wenigen Arten zu thun, oder ist hierbei eine Beteiligung vieler Mikroorganismenspecies und sonstiger Einfüsse wahrscheinlicher?

Der einzige sichere Weg, um Gewißheit hierüber zu erhalten, bestände in einer sorgfältigen mikroskopischen Untersuchung der Baumflüsse in Verbindung mit Infektionsversuchen. Erstere muß vor allem ein detailliertes Studium der vorgefundenen Mikroorganismenarten in morphologischer und physiologischer Hinsicht umfassen. Die Notwendigkeit der Vornahme von Infektionsversuchen wurde schon von verschiedenen Seiten betont (Ludwig, Hansen), aber nirgends konnte bisher zur Ausführung geschritten werden. Der Grund hierfür liegt offenbar in den großen Schwierigkeiten, denen solche Experimente unterworfen sind. Schon Ludwig hat auf die Abhängigkeit dieser letzteren von der Witterung hingewiesen; länger andauernde Trockenheit, wie sie das Jahr 1899, wie oben bereits erläutert, brachte, macht ihre Vornahme unmöglich. Des weiteren wäre eine sachgemäße Sterilisation bei den Versuchen keine kleine Aufgabe. Es würde sich zunächst darum handeln, durch künstliche mechanische Verletzung das Ausfließen von Baumsaft zu veranlassen und zu ermitteln, ob und eventuell welche Veränderungen bei sorgfältigem Ausschluß aller Keime im Saft vor sich gehen. Sodann hätten Infektionsversuche mit den einzelnen verdächtigen Arten zu entscheiden, inwieweit diese zu den stofflichen Veränderungen in Beziehung stehen. Aus dem Gesagten erhellt ohne weiteres, daß derartige Versuche durchaus nicht so einfach sind, wie es bei oberflächlicher Betrachtung der Dinge erscheinen könnte. Ohne Zweifel sind zu einer erfolgreichen Behandlung dieser Aufgabe mehrere Jahre erforderlich und ein nicht geringes Quantum von Arbeit und Geduld.

Aus den erwähnten Gründen war es bis jetzt nur möglich, dem ersten Teil der Aufgabe, nämlich der mikroskopischen Untersuchung der Baumflüsse, näherzutreten. Wissenschaftlich unanfechtbare Beweise für die Ursache der chemischen Umsetzungen in den Baumflüssen können durch diese Untersuchungen allein selbstverständlich nicht erhalten werden, es wird hierdurch nur ermöglicht, eventuell Anhaltspunkte zu gewinnen bezüglich der in den Baumflüssen überhaupt vertretenen Arten, sowie ihrer Mengenverhältnisse, denn selbst im Falle des besonders regelmäßigen und häufigen bezw. massenhaften Vorkommens gewisser Mikroorganismenspecies kann ihre Beziehung zu den stofflichen Veränderungen immer nur als wahrscheinlich, nicht als zweifellos sicher gelten. Eine Vermutung in dieser Hinsicht kann erst unter Zuhilfenahme

von Infektionsversuchen zur Gewißheit werden, vorausgesetzt, daß diese ein entsprechendes Resultat liefern.

In einer solchen Beleuchtung entbehren die Ludwig'schen Behauptungen der Beweiskraft; seine Untersuchungen können nicht einmal die Vermutung rechtfertigen, daß die bewußten chemischen Umsetzungsprozesse von gewissen Mikroorganismen ausgehen; denn Ludwig hat, wovon jeder, der seine Mitteilungen liest, sofort überzeugt ist, meist nur auf Grund einfacher mikroskopischer Durchsichtung des Materials, ja oft nur auf Grund rein äußerlicher an den Bäumen gemachter Beobachtungen seine Schlüsse gezogen. Nach unserem Dafürhalten dürfte aber eine derartige Methode nicht genügen, um über die Häufigkeitsverhältnisse im Vorkommen von Mikroorganismen ein sicheres Urteil zu gewinnen. Eine jedesmalige Isolierung und Reinzüchtung, als unentbehrliches Mittel der Artenbestimmung, darf nicht fehlen, es gilt dies ganz besonders bezüglich der Spaltpilze, und werden wir später noch bei diesem Punkte zu verweilen haben. Hansen's Untersuchungen zeigten bereits, daß die von Ludwig aufgeführten Mikroorganismen das häufige und regelmäßige Vorkommen, wie es letztgenannter Forscher ihnen zuspricht, nicht besitzen.

Es lag indessen in der Natur der Sache, den Ludwig'schen Organismen etwas größere Aufmerksamkeit zu widmen. Für die Gärungserscheinungen bei den Eichenflüssen macht Ludwig *Endomyces Magnusii*, sowie die Eichenhefe verantwortlich, für die Schleimbildung *Leuconostoc Lagerheimii*, einen zu den Mikrokokken gehörenden Spaltpilz. Bei der Ulme sollen *Micrococcus dendroporthos* und *Torula monilioides* eine hervorragende Rolle bei der Schleimbildung spielen. Betont muß hier werden, daß F. Ludwig vor allem bei den Eichen eine besondere Regelmäßigkeit in dem Auftreten bezw. der Aufeinanderfolge gewisser Erscheinungen (der Gärung und Schleimbildung) wahrgenommen hatte, die von Hansen, sowie von uns nicht beobachtet wurde. So fanden wir nirgends solch ausgesprochene Gärungsprozesse vor, wie sie Ludwig beschreibt, ebensowenig eine regelmäßige Aufeinanderfolge oder ein gleichzeitiges Nebeneinanderauftreten von Gärungserscheinungen und Schleimbildung, sondern, wie bereits früher erwähnt, traten die Schleimbildungen in den zahlreichen von uns beobachteten Fällen stets unvermittelt ein; eine Thatsache, deren Möglichkeit Ludwig ausnahmsweise einräumt (alleiniges Auftreten von *Leuconostoc*, 1). In der Ausflußöffnung zeigte der Erguß fast immer wässrige Beschaffenheit; es paßt diese Erscheinung gut zu unserer oben geäußerten Vermutung bezüglich der Nährstoffkonzentration. Wir geben indessen die Existenz von Vorgängen, wie sie Ludwig beschreibt, gerne zu, immerhin scheinen sie aber seltenere Vorkommnisse zu sein. In der überwiegenden Mehrzahl der Fälle findet dagegen das Auftreten des Schleimes unvermittelt statt, und müssen wir hier annehmen, daß der Uebergang des Saftes zur Schleimkonsistenz sich allmählich aus offenbar für das Auge unmerklich kleinen Anfängen vollzieht und daß erst mit zunehmender Konzentration der

Stoffe die Erscheinung in der bekannten Form deutlich zu Tage tritt.

Für die Beurteilung der Mikroorganismenflora der Baumflüsse genügt, wie bereits oben kurz dargelegt wurde, die einfache mikroskopische Untersuchung des Materials nicht. Notwendigerweise muß mit ihr eine Isolierung und Reinzüchtung der einzelnen Arten Hand in Hand gehen; denn bekanntermaßen sind die Bakterien nach ihren mikroskopischen Bildern allein nicht genügend charakterisiert, vielmehr bedarf es hier noch einer Ermittlung kultureller bezw. physiologischer Eigenschaften zur unzweifelhaften Feststellung der Arten. Auch für die Pilze erschien ein solches Verfahren wünschenswert, da es zugleich über die Mengenverhältnisse Aufschluß zu geben versprach. In Anwendung kam die in der Bakteriologie unentbehrlich gewordene Methode der Isolierung mit Hilfe der Plattenkultur.

Untersucht wurde natürlich eine möglichst große Zahl von Baumflüssen; etliche dieser letzteren mehrmals in 14-tägigen Zeitintervallen, denn es war von Interesse, gegebenenfalls Veränderungen in der floristischen Zusammensetzung, die im Laufe der Zeit vor sich gegangen, feststellen zu können. Das Material wurde der Ausflußöffnung oder möglichst in ihrer Nähe entnommen, denn hier war offenbar die Wahrscheinlichkeit des Auffindens derjenigen Mikroorganismen, die für die Veränderungen im Saftflusse von besonderer Bedeutung sind, am größten, an anderen Stellen konnten sie schon von anderen Arten mehr accessorischen Charakters an Zahl übertroffen oder gar vollständig verdrängt sein. Bei Gewinnung des Materials wurde auf folgende Weise verfahren:

✓ Vermittelst eines Skalpells, das durch Erhitzen über einer kleinen Spiritusflamme oder durch Eintauchen in absoluten Alkohol vorher an Ort und Stelle sterilisiert worden war, wurde an der Ausflußöffnung eine geringe Quantität Saftes bezw. Schleimes aufgefangen und in ein keimfrei gemachtes Gläschen gebracht. Ein Teil dieses Materials diente jeweils der direkten mikroskopischen Untersuchung, ein anderer zur Anlage von Plattenkulturen; es wurde hierbei auf die sattem bekannte Weise verfahren, indem eine Platinöse voll Substanz in ein zu $\frac{1}{3}$ mit flüssiger Fleischpeptonnährgelatine (mit Zusatz von 2—6 Proz. Dextrose) gefülltes Reagenzglas übertragen und darin gehörig zerrieben wurde. Aus diesem Reagenzglas ward ebenfalls mit der Oese eines sterilisierten Platindrahtes in ein zweites und von diesem in ein drittes Reagenzglas eine Spur der Mischung übertragen und durch Umrühren gleichmäßig in der Gelatine verteilt. Auf diese Art ward das zu untersuchende Material (samt den darin vorhandenen Keimen) in 3 verschiedenen Verdünnungsgraden der Nährsubstanz einverleibt und dementsprechend verschieden mußte die Anzahl der in den einzelnen Reagenzgläsern zur Verteilung gelangten Mikroorganismenkeime sein. Der Inhalt eines jeden Reagenzglases für sich wurde dann in eine Kulturschale ausgegossen und bis zur genügenden Entwicklung der Kolonien beiseite gestellt.

Die direkte mikroskopische Untersuchung mit und ohne An-

wendung von Färbungsmethoden ergab, was nach den äußeren Bedingungen, unter denen sich die hier behandelten Vorgänge abspielen, zu erwarten war, in fast allen Fällen eine überaus mannigfaltige Flora; Fadenpilze, Oïdien, Hefen, Algen, Bakterien u. a. m. bildeten ein überaus buntes Gemisch. Die mikroskopischen Bilder, die sich uns hier boten, mußten jeden Gedanken an die Möglichkeit, auf diesem Wege allein irgendwelche Aufschlüsse über die Artenzusammensetzung, Häufigkeitsverhältnisse oder gar über die mutmaßliche Beteiligung gewisser Mikroorganismen an den stofflichen Umsetzungen zu erhalten, sofort schwinden lassen. Am vegetationsärmsten zeigten sich die gewöhnlichen Saftflüsse, während die Schleimmassen sich in jedem Falle als überaus reich an Arten erwiesen. Nichts deutete aber auf die Entstehung der weißen Gallerte der Eichenschleimflüsse etwa als Ausscheidungsprodukt gewisser Bakterien hin.

Zu demselben Ergebnis führte die Isolierung in Verbindung mit der Reinzüchtung der Mikroorganismen der Baumflüsse.

Die Kolonien auf den Platten hatten sich nach 2—3 Tagen meist schon genügend entwickelt. Auf den ersten Platten waren die Keime gewöhnlich zu dicht gesät, so daß die Kolonien sich vielfach berührten, wodurch keine Garantie für Erhaltung einer Reinkultur geboten war. So waren nur die Platten der zweiten und dritten Verdünnung brauchbar. Die makroskopisch bezw. mikroskopisch (bei ca. 80facher Vergrößerung) verschieden aussehenden Kolonien wurden von den Platten abgeimpft und gesondert auf feste Nährböden übertragen.

Es hätte offenbar wenig Zweck, die in den einzelnen Baumflüssen vorgefundenen Mikroorganismen nach Art und Zahl aufzuführen. Denn sobald die Untersuchung im allgemeinen ergeben hat, daß die floristische Zusammensetzung eine sehr variable ist, so wird ohne weiteres klar, daß die zu einer bestimmten Zeit und an einer bestimmten Stelle vorhandene Mikroorganismengesellschaft in Bezug auf Art und Menge nur vom Zufalle abhängen kann und daß hier jede Gesetzmäßigkeit ausgeschlossen sein muß. Es gilt dies ganz besonders für die Bakterien. Mag auch zugegeben werden, daß gewisse Pilze sich besonders häufig vorfinden, so ist hiermit noch lange keine Berechtigung gegeben, hinsichtlich der Rolle, die sie im Baumsafte spielen, irgendwelche Schlüsse zu ziehen. Allerdings können solche Mikroorganismen erhöhtes Interesse gewinnen gegenüber denjenigen, von welchen wir wissen, daß ihr Vorkommen ein rein vorübergehendes accessorisches ist, und es gab solcher eine nicht geringe Zahl. Die angewandte Isolierungsmethode gab ein gutes Hilfsmittel an die Hand, um sich ein Urteil über die Häufigkeitsverhältnisse im Vorkommen gewisser Arten bilden zu können. Denn die in großer Menge in den einzelnen Baumflüssen vertretenen Organismenspecies waren auf allen 3 Platten in Anzahl zu finden, was bei seltener vorkommenden nicht der Fall war.

Eine detaillierte Aufzählung der in den einzelnen Baumflüssen beobachteten bezw. daraus isolierten Mikroorganismenarten wurde

außer von Ludwig (20), von Hansen (1) und Lindau geliefert. Einzelne Arten sind ferner da und dort eingehender beschrieben worden, so abgesehen von den Ludwig'schen Pilzen, 2 Algen und Pilzspecies von W. Krüger. Wir müssen von einer Aufzählung der einzelnen vorgefundenen Arten absehen, denn zur Feststellung dieser letzteren wäre eine ziemlich eingehende Untersuchung über die morphologischen und physiologischen Eigenschaften der verschiedenen Mikroorganismen notwendig gewesen, die uns zu sehr abseits geführt hätte. Wir mußten uns daher bezüglich dieser Arbeiten auf bestimmte Gruppen von Organismen beschränken, und das waren natürlich diejenigen, zu denen Ludwig's *Endomyces*, Eichenhefe, *Leuconostoc*, sowie die für die Ulme etc. als pathogen beschriebenen *Micrococcus dendroporthos* und *Torula monilioides* gehören.

Auf dem Wege künstlicher Züchtung gelang es, eine Reihe von morphologischen wie kulturellen Merkmalen für einzelne dieser Mikroorganismen festzulegen, die es ermöglichten, einen Vergleich mit den bereits in der Litteratur vorhandenen Beschreibungen der gesuchten Pilze anzustellen.

Eine Identifizierung gelang nur bezüglich des Ludwig'schen *Oidium*s (*Oidium* des *Endomyces*). Unter den aufgefundenen zahlreichen Hefearten befand sich keine, die jene charakteristische Zellform, sowie das bedeutende Gärvermögen der Ludwig'schen Eichenhefe besaß. Ebensowenig gelang es, die *Torula monilioides* aufzufinden. Ergebnislos war auch das Suchen nach dem *Leuconostoc Lagerheimii*, sowie dem *Micrococcus dendroporthos*. Das *Oidium Ludwigii*, wie es Hansen benannte, war also die einzige der von Ludwig beschriebenen Arten, deren Vorhandensein wir mit einiger Sicherheit zu konstatieren vermochten.

Was Verbreitung und Häufigkeit des Vorkommens anlangt, so verdient hervorgehoben zu werden, daß diese Art keineswegs überall und in solcher Menge sich vorfindet, wie dies Ludwig annimmt. Es decken sich in dieser Hinsicht unsere Resultate vollständig mit denjenigen Hansen's. In vielen weißen Schleimflüssen fehlte das *Oidium* ganz, dagegen fand es sich in einem braunen Schleimflusse der Eiche, sowie in gewöhnlichen Saftflüssen. Außerdem wurde es in einem Roßkastanienflusse konstatiert. Nirgends trat diese Art massenhaft auf. Andere Pilze, besonders Hefearten, sowie Bakterienarten übertrafen das *Oidium* anscheinend häufig an Zahl. Besonders reichlich war es neben Spaltpilzen in den früher erwähnten Schleimflüssen von mehr schaumiger Beschaffenheit zu finden, es spricht diese Thatsache ja allerdings etwas zu Gunsten der Ludwig'schen Behauptungen. Wir müssen uns indessen aus den bereits oben erörterten und aus noch später anzuführenden Gründen hier jeder Vermutung enthalten. Immerhin dürfte das *Oidium* zu den häufig vorkommenden Arten der Baumflußflora gehören. Wir wendeten diesem Pilze naturgemäß erhöhtes Interesse zu, um so mehr als bezüglich seiner morphologischen und physiologischen Eigenschaften die bis dahin vorge-

nommenen Untersuchungen zu einem einheitlichen Resultat noch nicht geführt hatten. Wir geben in Folgendem eine kurze Uebersicht über das bereits Festgestellte und anschließend eine Zusammenstellung der Resultate eigener Beobachtungen.

1. *Oidium Ludwiggii* Hansen (das *Oidium* des *Endomyces*).

Das Ludwig'sche *Oidium* gehört zu den „fungi imperfecti“, d. h. den Pilzen, denen infolge mangelnden Auffindens geeigneter morphologischer Merkmale ein bestimmter Platz im System noch nicht angewiesen werden konnte.

Vom Pilze sind bis heute nur das durch die oft vorwiegend unilaterale Verzweigung charakteristische Mycel, sowie Gonidien bekannt.

Die erste eingehende Beschreibung der morphologischen und physiologischen Eigenschaften stammt von Ludwig, dem Entdecker des *Oidiums*. Genannter Forscher versprach sich damals von seiner Entdeckung sehr viel. Lesen wir doch unter anderem in den Berichten der deutschen botanischen Gesellschaft zu Berlin 1886. p. XXI:

„Der Pilz hat noch ein hervorragendes Interesse dadurch, daß er Licht und Klarheit bringt in eine sehr dunkle Stelle des Pilzreiches, in die Gruppe des *Herpes-* und *Favus-*Pilzes, *Oidium lactis* und des Soorpilzes, deren Zugehörigkeit bisher noch nicht erkannt worden ist, und daß er aller Wahrscheinlichkeit nach die Endosporen-bildende *Saccharomyces*-Hefe erzeugt, welche stets mit und nach ihm an den gärenden Bäumen auftritt.“

Ebenda finden wir denn auch eine detaillierte Beschreibung der neu entdeckten Pilze: Ludwig glaubte den einen derselben seines morphologischen Verhaltens wegen in die Gruppe der *Gymnoasci* einreihen zu müssen und stellt ihn daselbst unter die Gattung *Endomyces*, als neue Art *Endomyces Magnusii*, weil dieser Pilz mit dem bekannten Vertreter der Gattung *Endomyces decipiens* die meiste Aehnlichkeit besitze. Ludwig traf im Gärungsschaum und Schleim gewöhnlich das Mycel und die Gonidien seines Pilzes; es gelang ihm leicht, die Zusammengehörigkeit beider Vegetationsformen nachzuweisen, indem er später den Vorgang der Abgliederung von Gonidien am Mycel unter dem Mikroskop direkt verfolgte.

Im gleichen Jahre (1884) fand Ludwig bei Greiz in einem Eichenschleimflusse die Reste eines Mycels vor, das neben Gonidien auch 4 sporige Asci produziert hatte. Er hielt dies neu entdeckte in Asci fruktifizierende Mycel für vollkommen identisch mit dem bereits früher häufig gefundenen ausschließlich Gonidien bildenden, glaubte also eine neue Fruktifikationsform desselben Pilzes gefunden zu haben. Ursprünglich stellte Ludwig diese als geschlechtliche der Gonidienbildung als ungeschlechtlichen gegenüber, indem er irrthümlicherweise Fusionen dünner Hyphenäste mit den in Bildung begriffenen Asci als Geschlechtsakt deutete.

Vom Mycel giebt Ludwig folgende Beschreibung:

„Das Mycelium des Pilzes besteht in seiner üppigsten Entwicklung an den Eichen wie in künstlichen Substraten aus starren, vielzelligen, reichverzweigten Hyphen und ist durch sein sehr charakteristisches Aussehen, durch die vorwiegend unilaterale (sympodiale) Verzweigung und durch die konstante Anordnung der Zellwände leicht von anderen Pilzmycelien zu unterscheiden; die Zellen der Hauptäste sind meist 50—70 μ lang und 8—10 μ dick.“

Die Dimensionen unterlägen indessen bedeutenden Schwankungen. Häufig sei eine plötzliche Verschmälerung des Sprossendes.

Die Gonidienbildung fände durch Querzergliederung in basipetaler Richtung statt, und zwar könnten sich hieran beteiligen sowohl die in die Luft ragenden Zweige wie die in der Flüssigkeit befindlichen, es gleiche die Gonidienbildung derjenigen von *Oidium lactis* außerordentlich, ebenso derjenigen des Herpes- und Favus-Pilzes. Auch Knospenbildung trete häufig am Mycel von *Endomyces* auf, wie bei den oben erwähnten bereits bekannten Pilzhyphen, und schließlich hätte *Endomyces Magnusii* mit diesen noch die Bildung accessorischer Gonidien oder Gemmen gemein.

Die verkehrt eiförmigen Asci seien etwa 25—30 μ lang, 18—20 μ breit und säßen am Ende längerer oder kürzerer Haupt- und Seitenäste. Die reifenden Sporen sähen blaßgelb aus, die reifen gelbbraun und seien von durchsichtigem, wässrigem Epiplasma umgeben.

Ludwig traf die Ascusfruktifikation zum ersten Male im Krümmthale bei Greiz Juni 1884, er bemühte sich danach vergebens, die Asci auf künstlichen Nährsubstraten zu erzeugen. Es glückte Ludwig später, noch verschiedene Male, die Ascusfruktifikation in Schleimflüssen aufzufinden. Immerhin stehen die Fälle recht vereinzelt da, und wenn man dazu in Betracht zieht, daß von anderer Seite noch keine Beobachtungen vorliegen, so muß es sehr befremden, wenn Ludwig in der Botanischen Zeitung. 1892. p. 794 behauptet, der Pilz fände sich allenthalben auch in der Ascusform vor, nicht, wie Hansen meinte, nur ausnahmsweise.

Ludwig kultivierte das *Endomyces-Oidium* in Bierwürze, Pflaumendekot und erzielte eine lebhaft alkoholische Gärung; ferner nahm er Züchtungen auf Kartoffeln, Milch und anderen Nährsubstraten vor. Ueberall bildete der Pilz zuerst weiße Räschen, zuletzt eine zusammenhängende Haut (bezw. Belag). In der Gelatinestichkultur zeigte er ein typisches Wachstum. Vom Stichkanal aus wuchs er senkrecht-strahlig in die Gelatine (Fleischpeptonnährgelatine wie Würzegeleatine) hinein, er erlitt dabei eine durchgehende Zergliederung, und nach einiger Zeit fand sich vom Mycel überhaupt nichts mehr vor, wohl aber lauter Oidien sporen, welche durch ihre Anordnung makroskopisch verzweigte breite (aus mehreren nebeneinander fortwachsenden Reihen entstandene) oder schmale, oft schraubenzieherartig gewundene fädige Aeste zu bilden scheinen. Von dem im allgemeinen sehr ähnlichen *Oidium lactis* unterschied sich der Pilz, abgesehen

von seinen erheblicheren Dimensionen, durch die regelmäßig am Ende verzögerten Keimformen. Auch hatten, wie die Vergleichung ergab, die Fäden des *Oidium lactis* weniger Zellwände, außerdem eine spärlichere und andersartige Verzweigung.

Für seine Ueberzeugung, daß auch die Eichenhefe trotz ihrer Endosporenbildung nichts anderes als eine Entwicklungsform des *Endomyces Magnusii* sei, bringt Ludwig auch hier keine exakten Beweise.

Die große Bedeutung, welche Ludwig seinen Entdeckungen beimaß, gaben E. Ch. Hansen Veranlassung, mit der von ihm in einem Eichenschleimflusse bei Kopenhagen gefundenen *Oidium*- und Hefeform, deren Identität mit den Ludwig'schen zum mindesten als wahrscheinlich gelten durfte, eingehende Untersuchungen vorzunehmen.

Durch direkte mikroskopische Untersuchung des Schleimes war es Hansen damals nicht gelungen, die genetische Verbindung beider Formen sicher festzustellen, später traf er dieselben im Eichenschleim nicht mehr zusammen an. Die Ascusfruktifikation bekam er überhaupt nicht zu Gesicht; er sah sich daher genötigt, auf experimentellem Wege eine Lösung der von Ludwig erstmals aufgestellten genetischen Probleme zu versuchen. Es handelte sich dabei für Hansen hauptsächlich um die Beantwortung folgender Fragen: Kann von der *Oidium*-Form die *Endomyces*-Fruchtform oder die *Saccharomyces*-Form entwickelt werden, und umgekehrt, kann man, von letzterer ausgehend, eine der beiden erhalten?

Die guten Abbildungen und klare Beschreibung, die Ludwig von seinem *Endomyces* gegeben, ließen für Hansen jeden Zweifel an der Identität seines *Oidiums* und des Ludwig'schen schwinden.

Bei einer ersten Versuchsreihe wählte Hansen das *Oidium* des *Endomyces* als Ausgangspunkt. Es wurden Reinkulturen von Würzelgelatine hergestellt und das Wachstum einzelner Zellen (*Oidien*) makroskopisch und mikroskopisch verfolgt. Aus jungen kräftigen Zellen entstanden bei 25° Vegetationsflocken, die schon nach einem Tage dem unbewaffneten Auge sichtbar waren und sich durch nichts von gewöhnlichen Hefeflecken unterschieden. Bei schwacher Vergrößerung aber zeigten sie ein mehliges Aussehen, und es war zu bemerken, daß von ihrer Peripherie aus Strahlen in die umgebende Gelatine hineingingen, deren größter Teil aus Gonidienketten bestand. Ein Würzelkolben mit einer solchen Reinkultur infiziert und in den Thermostaten bei 25—27° gebracht, ließ schon nach einem Tage deutliche Gärung wahrnehmen. Die Oberfläche der Flüssigkeit bedeckte sich dann mit einer stark blasigen, mehrlartigen, weißlichen, an manchen Stellen aber gelblichen oder bräunlichen Haut. Nach 11 Tagen bei gewöhnlicher Zimmertemperatur enthielt eine solche Würzelkultur, welche mittels des Ebullioskopes analysiert wurde, 0,75 Vol.-Proz. Alkohol, nach 22 Monaten 1,4 Vol.-Proz. In einer Lösung von 10-proz. Dextrose in Hefewasser bei 25° waren nach 14 Tagen 3,4 Vol.-Proz. Alkohol

gebildet. In allen Fällen ging auch eine kräftige Aetherbildung nebenher, welche sich durch ihren Geruch sehr bemerkbar machte, eine Bestimmung hiervon nahm Hansen indessen nicht vor. Saccharoselösungen wurden invertiert, in Lösungen von Laktose und Dextrin in Hefewasser entstand keine Gärung, in Stärkewasser keine Zuckerbildung.

Neue Entwicklungsformen kamen in diesen Flüssigkeiten nicht zum Vorschein; auch nicht nach 1—2-jähriger Ruhe, ebenso wenig auf den anderen Nährsubstraten, auf denen der Pilz gezüchtet wurde (Gelatine mit Zusatz von Würze, Aepfelsaft, Kirschensaft, Fleischsaft, Hefewasser, Gummi, Dextrin, Eichenborkenextrakt, Brot, mit und ohne Nährlösungen). Nirgends traten Anzeichen von Sporenbildung auf, auch nicht in den auf verschiedene Weise variierten Kulturen, welche zu diesem Zweck auf Gipsblöcken angelegt wurden. Glänzende fettartige Körper, die bei oberflächlicher Betrachtung etwas Aehnlichkeit mit Endosporen hatten, fanden sich zwar häufig, sie waren indessen derselben Art und boten dasselbe Aussehen, wie die schon in einer früheren Arbeit von Hansen beschriebenen Bildungen bei *Oidium lactis*. Wurde Alkohol oder Aether zugesetzt, so schwanden diese Körper. Die Gelatinekulturen boten oft schöne Beispiele gelatinöser Netzworfbildung. Das Ergebnis aller dieser Versuche war also, daß die von Ludwig beschriebene Art nur in Mycelform und Oidienfruktifikation auftrat.

In ganz analoger Weise experimentierte Hansen in einer zweiten Reihe von Versuchen mit Ludwig's endosporenbildendem *Saccharomyces*. Diese Hefeart war morphologisch durch ihre oft flaschen- oder citronenförmigen Zellen charakteristisch. Sie vermehrte sich wie die anderen Hefen durch Sprossung, daneben aber auch durch Endosporenbildung und unterschied sich gerade hierdurch wesentlich von den *Endomyces*-Oidien. Durch zielbewußte Auswahl gelang es indessen Hansen, 3 verschiedene Vegetationsformen dieser Art zu erhalten, die sich dadurch unterschieden, daß die erste in hohem, die zweite in weit geringerem Grade zur Endosporenbildung neigte, während die dritte diese Fähigkeit offenbar verloren hatte. Letztere schien sich denn auch etwas der *Oidium*-Form zu nähern, aber alle Versuche, ihre genetische Verbindung mit dieser Form festzustellen, blieben erfolglos, zeigten sich auch namentlich in alten Kulturen häufig mycelartige Bildungen, so waren dieselben doch weit verschieden von dem schönen typischen Mycel, in welchem Ludwig's *Endomyces-Oidium* auftritt, und machten mehr den Eindruck krankhafter Bildungen.

Auch makroskopisch zeigten die Kulturen bedeutende Unterschiede von denen des *Oidiums*. In physiologischer Hinsicht konnte Hansen eine bedeutendere Gärkraft konstatieren.

Diese Resultate veranlaßten Hansen wohl mit Recht, die von Ludwig geltend gemachten genetischen Beziehungen der aus dem Schleimflusse der Eichen isolierten Pilzformen in Abrede zu stellen. So gelangte Hansen dazu, einerseits von dem Ludwig'schen *Endomyces Magnusii* die ausschließlich Gonidien-

bildende Mycelform als *Oidium Ludwigii* loszutrennen, andererseits die Hefeform als selbständige Art *Saccharomyces Ludwigii* aufzustellen.

Im Jahre 1890 veröffentlichte O. Brefeld in seinen „Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie“. Heft 9, p. 124 f. eine ziemlich eingehende morphologische und physiologische Beschreibung des *Endomyces Magnusii* Ludwig. Das Material für seine Untersuchungen hatte Brefeld aus Eichenschleim isoliert, der ihm von Ludwig selbst zugesandt worden war. Dieser Eichenschleim enthielt *Endomyces*-Mycel in reichlicher Menge, sowohl in Oidien- als auch in Ascusfruktifikation. Brefeld machte es sich ebenfalls zur Aufgabe, den Zusammenhang des Mycels und dieser verschiedenen Fruktifikationsformen durch Kulturversuche nachzuweisen. Bezüglich der Oidien gelang ihm dies leicht, indem sowohl im Schleime selbst die Abgliederung von Oidien an den Hyphen unter dem Mikroskope verfolgt werden konnte, als auch durch Züchtung auf künstlichen Nährsubstraten ihre Zugehörigkeit erwiesen wurde. Die Oidien keimten nämlich hier zu Mycelien aus, die ihrerseits wieder die charakteristischen Oidien abschnürten. Zur Bildung von Asci kam es indessen bei allen derartig angestellten Versuchen nicht. Brefeld wurde schließlich auf den Gedanken gebracht, daß die Züchtung auf gelatinisierten Nährsubstraten zur Entstehung der Asci führen könnte. Es wurden Kulturen in Böttcher's feuchter Kammer eingerichtet und das Wachstum der keimenden Oidien genau verfolgt, aber auch hier zeigte sich keine Spur einer Anlage von Asci, die gebildeten Mycelien zerfielen in Oidien, sobald sich die Vegetation der Oberfläche des Tropfens näherte; erst als Brefeld, um dies zu verhindern, den Tropfen successive durch Hinzufügen neuer Nährgelatine verstärkte, gingen plötzlich zahlreiche Mycelfäden zur Ascusfruktifikation über.

Der festen Ueberzeugung, daß auch *Oidium lactis* nichts anderes als die *Oidium*-Form eines höheren (eventuell ebenfalls *Endomyces*-artigen) Pilzes sei, nahm Brefeld auch mit diesem *Oidium* die gleichen Versuche unter denselben Kulturbedingungen vor, der erwartete Erfolg blieb jedoch aus. Gelegentlich der Kultur des Ludwig'schen *Oidiums* (*Endomyces*) in Bierwürze zeigte es sich, daß eine alkoholische Gärung durch ihn nicht hervorgerufen wird:

„Die stets von neuem untergetauchten Kahlhäute von Oidien, die sich immer wieder an der Oberfläche der Nährlösungen ansammelten, erregten selbst in dieser Anhäufung keine Gärung, auch in der Masse des Sedimentes nicht, welches sich schließlich am Boden der Nährlösung angesammelt hatte.“

Ältere Oidien hatten Fetttropfen in ihrem Innern gebildet, nicht selten ward auch die endogene Bildung von Oidien innerhalb der Fäden beobachtet.

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Entgegnung auf Alfred Fischer's „Antwort“ in betreff der Existenz von durch Bakterien verursachten Pflanzenkrankheiten.

Zweiter Teil.

Von Dr. Erwin F. Smith,

Direktor der pathologischen Laboratorien der Division of Vegetable Physiology
and Pathology, U. S. Department of Agriculture, Washington, D.C., U.S.A.

Mit 11 Tafeln.

(Schluß.)

In Fig. 3 sieht man einen Durchschnitt durch den Stengel einer Gurke (*Cucumis sativus* L.), welche vom *Bacillus tracheiphilus* befallen wurde. Von einem Feld bei Washington, D.C. Auf dem gefärbten Querschnitt erscheinen die Bakterien tiefblau gefärbt gegenüber den schwach gefärbten übrigen Teilen. In 8 von den 9 Gefäßbündeln sind die Spiralgefäße (an das innere Phloëm angrenzend) von den Bacillen erfüllt, in einigen Fällen sind sie auch in den benachbarten Tüpfelgefäßen enthalten. Das zartere dünnwandige, nicht verholzte Parenchymgewebe, in welchem die Spiralgefäße liegen, ist teilweise in mit Bakterien erfüllte Höhlungen verwandelt. Im 9. Gefäßbündel, welches frei ist von Bakterien, befanden sich keine Spiralgefäße. Bei diesem Stadium der Entwicklung der Krankheit ist noch kein anderer Teil des Stengels angegriffen und die Bakterien sind hier noch auf die Gefäßbündel beschränkt. Die Photographie zeigt die angegriffenen Spiralgefäße und ihre Umgebung schwarz. Das allgemeine Krankheitsbild wird durch die verstopften oder aufgelösten Spiralgefäße bedingt. Der Grund für die eigentümliche Verteilung des *Bacillus* wurde in einem meiner früheren Artikel detailliert auseinandergesetzt (dieses Centralblatt. Bd. I. p. 364). In diesem Stadium der Krankheit sind die durch Insektenbisse mit diesem *Bacillus* infizierten Blätter verdorrt, während die anderen, sogar bei großen Pflanzen, im Verwelken begriffen sind. Die Stiele sind noch grün und turgescens, ausgenommen an den Blättern, in welchen die Krankheit sehr weit vorgeschritten ist. Hier in der Nähe der vertrockneten Spreite sind sie erweicht und gelblich oder sogar gegen ihr Ende hin verdorrt. Die Oberfläche des Stengels ist noch normal in der ganzen Erscheinung, wie sie auf diesem Schnitt zu sehen ist und wie ich ursprünglich beschrieb (siehe Fischer's Citat in seiner „Antwort“, p. 281 unten). Das Äußere des Stengels zeigt durch seine ganze Länge keine Flecken oder irgendwelche Zeichen von Angriffen von Bakterien, Mycelpilzen oder Insekten. Die Wurzeln sind auch noch gesund und eine bloß äußerliche Untersuchung der Pflanze hätte die Krankheitsursache nicht erkennen lassen. Wenn jedoch solche Stengel mittels eines reinen scharfen Messers durchschnitten werden, dann quillt auf dem Querschnitt der Bakterien-

schleim aus den Bündeln hervor, entweder unmittelbar oder nach 1 oder 2 Stunden sehr zähe, milchweiße Tropfen bildend.

Diese Photographie und die folgende werden den Leser darüber orientieren, wie die Infektion stattfindet, wie das Vordringen der Krankheit durch bestimmte Gewebe vor sich geht und wie die resultierenden Symptome und Verletzungen nacheinander folgen, was doch alles von ungewöhnlichem Interesse ist. Alle Photographien der hier besprochenen Gurkenschnitte (ausgenommen Tafel VI) wurden von Stengeln in demselben Stadium der Krankheit als bei Fig. 3 hergestellt. Niemals wurden Mycelpilze in den verstopften Gefäßen gefunden. Der Durchmesser dieses Querschnittes, von welchem die Photographie hergestellt wurde, war 7,5 mm und der Stengel selbst ungefähr 2 m lang. In den meisten Fällen findet die Uebertragung des Bacillus durch Nagen oder Stiche von Insekten statt; das war aller Wahrscheinlichkeit nach auch die Ursache in diesem Fall. Hier hatte sich der Bacillus in den Gefäßbündeln schon mehrere Wochen lang vermehrt (wahrscheinlich 2 oder 3). Dieser Schnitt wurde von einem Stück hergestellt, welches in starkem Alkohol fixiert, in Paraffin eingebettet und mit dem Mikrotom geschnitten war. Er wurde mit einer wässrigen Lösung von Gantianviolett gefärbt, nachdem er zuerst einige Minuten mit wässriger Tanninlösung behandelt war.

In Fig. 4 sieht man einen radialen Längsschnitt durch einen Gurkenstengel in demselben Krankheitsstadium wie bei Fig. 3. Dieser Schnitt geht durch einen der Bündel und endigt im Grundgewebe gegen den centralen Teil des Stengels. Die einzige von dem Bacillus erfüllte Stelle ist der enge, mit X bezeichnete Streifen. Das Spiralsystem mit dem umgebenden nicht verholzten Gefäßparenchym und sehr wenigen benachbarten Tüpfelgefäßen ausgenommen, ist der größere Teil des Stengels noch frei von Infektion wie bei Fig. 3, aber der Charakter der bakteriellen Invasion ist ein solcher, daß die Blätter unwiederbringlich verloren sind. Von der linken Seite beginnend, haben wir die folgenden Gewebe: A. Epidermis, B. Collenchym, C. Rindenparenchym (an einigen Stellen ganz oder fast ganz abwesend, siehe Fig. 3), D. stereomatische Scheide, E. Parenchym, F. äußere Phloëm, G. Fascicular Cambium, H. Xylem, I. Spiralgefäße, eingebettet in ein zartes nicht verholztes Gefäßparenchym, welches Chloroplasten enthält, K. Procambium (das innere Cambium einiger Autoren), L. inneres Phloëm, M. inneres Parenchym oder Grundgewebe des Stengels (dem Mark entsprechend).

In Fig. 5 befindet sich ein Durchschnitt durch eine Portion eines äußeren Bündels mit Spiralgefäßen erfüllt von den Bacillen, während das Cambium und Procambium, das innere und äußere Phloëm, das umgebende Grundgewebe und fast das ganze Xylem noch frei sind. Photographiert mit Sonnenlicht durch das Zettnow'sche Filter auf orthochromatische Platten, um die Kontraste des ursprünglichen Durchschnitts zu präservieren; die tiefblauen Bakterienmassen heben sich auf fast farblosem Grunde ab. Der Schnitt wurde mit Tannin behandelt und dann in Gantianviolett

gefärbt, mit Alkohol gut gewaschen und in Kanadabalsam eingebettet.

Einen anderen Durchschnitt des vorigen Bündels, photographiert ohne Lichtfilter und stärker vergrößert, sieht man in Fig. 6. Besondere Aufmerksamkeit verdient die Art und Weise, in welcher sich die Höhlungen um die Spiralgefäße gebildet haben. Alle Spiralgefäße sind mit den Bacillen erfüllt und mehr oder weniger desorganisiert. In 6 Stellen sind mit Bakterien erfüllte Höhlungen in dem umgebenden, nicht verholzten Gefäßparenchym aufgetreten, wie in meiner Mitteilung beschrieben wurde. (Siehe meine Ausführungen und Dr. Fischer's Bemerkungen unten auf p. 281 in seiner „Antwort“.) An einigen Stellen liegen die Ueberbleibsel von 2 oder 3 Spiralgefäßen frei in derselben Höhlung. In solchen Fällen ist der verholzte und unlösliche Spiralfaden das einzige, das übrig bleibt, während die nicht verholzte dünne Wandung der Spiralgefäße, ferner die Cellulose und das Protoplasma des umgebenden Gefäßparenchyms verschwanden; ihre Stelle ist durch Myriaden des Bacillus ausgefüllt. Die Häufigkeit dieser Höhlungen und die gleichmäßige Art, in welcher sie schon in einem frühen Stadium der Krankheit erscheinen, lassen keinen Zweifel übrig, daß dieser Organismus fähig ist, die Zellwände der angegriffenen Pflanzen aufzulösen. In dieser Photographie sind die bakteriellen Höhlungen klar und deutlich zu sehen, besonders mit einer Lupe, welche 2—3mal linear vergrößert.

In Fig. 7 ist ein dünner ungefärbter Durchschnitt durch einen Gurkenstengel (in Glycerin eingebettet), welcher ein kleines Spiralgefäß zeigt, welches mit Bacillen vollgepfropft ist und in noch unbeschädigtem Parenchym liegt. Man vergleiche diesen Durchschnitt mit Fig. 8, in welcher jedoch die Spiralgefäße breiter und die Vergrößerung viel geringer ist. Unzerstörtes Parenchym kann man auch rings herum bei einigen verstopften Spiralgefäßen bei Fig. 5 und 6 erkennen.

Ein Durchschnitt durch den inneren Teil eines inneren Bündels befindet sich in Fig. 8, wo die Krankheit weiter entwickelt ist wie in Fig. 7, jedoch in demselben Stadium wie Fig. 6. Die Wände zweier Spiralgefäße sind auf einer Seite gelöst und viele der anliegenden Parenchymzellen sind verschwunden, eine größere mit Bacillen erfüllte Höhlung hinterlassend. Man sieht hier auch das Procambium und die äußere Portion des inneren Phloëms mit einigen Siebplatten im Focus. Schnitt sehr schwach gefärbt mit Fuchsin.

Ein Durchschnitt durch ein kleines Tüpfelgefäß, welches eben anfängt von dem Bacillus okkupiert zu werden, ist in Fig. 9 zu sehen, welches 1894 von einer ungefärbten Glycerineinbettung photographiert wurde durch lange Einwirkung von Welsbach-Licht.

Einen Durchschnitt durch 2 große Tüpfelgefäße sieht man in Fig. 10. Eines ist mit den Bacillen erfüllt, das andere noch nicht. Das verbindende Gewebe ist verholzt. Der Schnitt wurde in Alkohol gehärtet und mit Fuchsin schwach gefärbt. Durchmesser

des leeren Gefäßes 0,15 mm. Der Bakterien Schleim hat sich infolge unvollständigen Fixierens etwas von der Wandung zurückgezogen und in dieser Beziehung weicht er von dem frischen Schnitte ab.

Ein vertikaler Schnitt durch ein Tüpfelgefäß, wie das nicht angegriffene in Fig. 10, ist in Fig. 11 eingeführt, um den Charakter der Wandung zu bezeichnen. Das Gewebe auf beiden Seiten entspricht dem in Fig. 10.

In Fig. 12 sieht man einen Teil desselben Schnittes wie in Fig. 4, aber unten und stärker vergrößert. Hier befindet sich ein mit den Bacillen erfülltes Spiralgefäß (in dem Schnitt selbst sieht man es als einen dunkelroten Streifen in noch unangegriffenem und leicht gefärbtem Gewebe). Der Schnitt wurde in Karbolfuchsin gefärbt, dann in 50-proz. Alkohol gut gewaschen. Dieses Spiralgefäß befindet sich in demselben Krankheitsstadium, wie in Fig. 7 dargestellt wurde und wie die äußeren Spiralgefäße in Fig. 6. Rechts befinden sich die Siebröhren, welche von den Spiralgefäßen durch ein schmales Band von Procambium getrennt sind.

Das Spiralgefäß von Fig. 12 vergrößert, um die granulierten Natur des Inhaltes zu zeigen, ist in Fig. 13 zu sehen. Hier sind zu viele Bakterien angehäuft, um die einzelnen Stäbchen noch klar durch die Photographie zeigen zu können. Ein Durchschnitt eines ähnlichen Spiralgefäßes befindet sich in Fig. 7.

Ein Längsschnitt, ähnlich wie in Fig. 12, aber von einer anderen Probe und stärker vergrößert, ist in Fig. 14 dargestellt. Alle Spiralgefäße sind von den Bacillen erfüllt und einige von ihnen samt dem umgebenden Parenchym sind vollständig zerstört, wie die große Bakterienhöhle in der Mitte zeigt. Man vergleiche dieses Bild mit Fig. 6 und 8, welche ähnliche Höhlen im Querschnitt zeigen. Bei der geringeren Vergrößerung erscheinen hier die Bakterien nur als feine Granulationen. Die kleinen schwarzen Flecken in dem Gewebe rechts und links sind gefärbte Chloroplasten des umgebenden Parenchyms. Etwas von den inneren Phloëms sieht man zur Rechten.

Einen dünnen radialen Längsschnitt (unterer Teil desselben Schnittes wie in Fig. 4) sieht man in Fig. 15. Diese Photographie zeigt einen Teil zweier Tüpfelgefäße: eins davon ist mit den Bacillen erfüllt und stark mit Karbolfuchsin gefärbt, das andere (ein breiter weißer Streifen) ist noch unangegriffen. Procambium und Siebröhren des inneren Phloëms befinden sich auf der einen Seite. Die Vergrößerung ist wie bei Fig. 12. Man vergleiche dieses Bild mit dem Durchschnitt von Fig. 10. Die getüpfelte Wand ist nicht sichtbar in dem leeren Gefäß, da der Schnitt durch die Mitte ging und nicht durch die Seite wie in Fig. 11.

Fig. 16 zeigt Längsschnitt durch einen sehr kleinen Teil eines Tüpfelgefäßes, welches eben anfängt, sich mit den Bacillen zu erfüllen. Oben und unten sieht man Ueberreste von Querwänden, welche bei der Ausbildung der Gefäße durch Zellverschmelzung übrig blieben. Manchmal dehnen sich diese Ueberbleibsel bis in die Gefäße hinein aus und zeigen dann Tüpfel wie die Seiten-

wände. Behufs Orientierung siehe Fig. 11. Gruppen von 30 und mehr Bacillen können in den Tüpfeln beobachtet werden. Zur Linken ist eine dichte Masse von Bakterien, während hie und da auch noch unerfüllte Tüpfel zu sehen sind. Natürlich sind sehr viele Bakterien außerhalb des Focus, da die Gefäße cylindrisch sind. Die in den Tüpfeln befindlichen Bakterien mögen sich durch die sehr dünne Membran oder Oeffnung in das Centrum jedes Tüpfels von erkranktem Gewebe hereingedrängt haben. In dieser Weise werden wahrscheinlich die Tüpfelgefäße und das verholzte getüpfelte Bindegewebe gewöhnlich erfüllt werden. Mit Karbolfuchsin gefärbt. Fig. 17 ist ein kleiner Teil von Fig. 16, 1000mal vergrößert.

Fig. 18 ist eine Ansicht ähnlich wie in Fig. 9, aber von einer anderen Probe und mit Karbolfuchsin gefärbt. Es ist ein Querschnitt durch ein großes, mit Bacillen erfülltes Tüpfelgefäß, ähnlich wie in Fig. 15. Der dunkle Teil unten ist übermäßig gefärbte Gefäßwand und benachbartes Bindegewebe.

In Fig. 19—22 sieht man Längsschnitte eines Gurkenstengels in fortgeschrittenem Zersetzungsstadium der Gefäßbündel. Die grauen Massen bestehen ganz aus Bakterien Schleim, ungelöste Fragmente der Wirtspflanze beigemischt enthaltend. Aus Fig. 19 ersieht man eine vollständige Zersetzung der Gefäßbündel, in den anderen zahlreiche Bakterienhöhlen. Dieser Zustand erstreckt sich beinahe auf die ganze Länge des Stengels. In Fig. 20, 21 und 22 sind beim Anfertigen der Präparate viele Bakterien entfernt worden, so daß die Höhlungen noch deutlicher sichtbar sind. Bei diesem Stengel war das umgebende Grundparenchym noch so gesund und frei von Bakterien wie die Proben in Fig. 3 und 4. Gewebe mit Hämatoxylin gefärbt, eingebettet in Glyceringelatine, gehärtet in absolutem Alkohol und auf dem Mikrotom unter absolutem Alkohol geschnitten. Diese Schnitte wurden im Jahre 1893 hergestellt und die Photomikrographien sind ein Teil derselben, welche im Jahre 1894 hergestellt worden sind und auf welche in meiner deutschen Abhandlung Bezug genommen wurde. Alle anderen Gewebefiguren der Gurkenpflanze und auch die von Kohl und Kartoffeln wurden von Geweben hergestellt, welche in Alkohol gehärtet, in Paraffin sorgfältig eingebettet und, wenn nötig, auf dem Objektträger gefärbt wurden. Meistenteils wurden sie dann entwässert und in Kanadabalsam eingebettet.

Ein großes Spiralgefäß, dicht mit Bakterien gefüllt, aus dem Stengel einer Gurkenpflanze im Querschnitt, ist in Fig. 23 zu sehen. Dieses ist eine getreue Wiedergabe der mikroskopischen Ansicht von Hunderten von Spiralgefäßen, welche ich in Stengeln von vielen verschiedenen Gurkenpflanzen zu sehen Gelegenheit hatte und sowohl von Feldern verschiedener Jahre stammten als auch aus dem Treibhause bei den Impfversuchen, die schon früher in meiner deutschen Abhandlung beschrieben wurden. Niemals wurde das Infektionsmaterial direkt in den Stengel eingeführt, sondern immer in die Blattspreite mittels feiner Nadelstiche. Bei Kontrollversuchen mit sterilisierten Nadeln heilten die stets kleinen

Wunden sofort und es fand hier niemals ein Abwelken oder irgend eine Krankheit statt.

Ein Deckglaspräparat des *Bacillus tracheiphilus*, direkt hergestellt von dem sehr klebrigen Schleim aus dem Innern eines in Fig. 3 dargestellten Stengels, sieht man in Fig. 24.

Ein Deckglaspräparat von einer wenige Tage alten Agarkultur von *Bacillus tracheiphilus*, gefärbt mit Karbolfuchsin, ist in Fig. 25 dargestellt.

In Fig. 26—27 sieht man geißelführende Stäbchen des *Bacillus tracheiphilus* von einer einige Tage alten Agarkultur, behandelt nach Van Ermengem's Silbernitratmethode. Der Organismus bewegt sich vermittelst 4—6 peritrichischer Geißeln. Diese Stäbchen erscheinen viel breiter als die in den anderen Figuren infolge der breiten klebrigen Kapsel, welche ebenfalls durch Silbernitrat wie die Geißeln geschwärzt wurden.

Wir wollen nun *Pseudomonas campestris* betrachten.

Ein Durchschnitt durch einen Blattstiel von Kohl (*Brassica oleracea capitata*), infiziert mit einer Reinkultur von *Pseudomonas campestris* (Pflanze No. 42 dieser Infektionsreihe) ist in Fig. 28 zu sehen. Hier finden wir Gefäßbündel geschwärzt, Gefäße erfüllt mit den Bakterien und Höhlungen in vielen der Gefäßbündel vorhanden. Die Epidermis ist noch intakt und das Parenchym zwischen den Gefäßbündeln noch frei von Bakterien. Diese Pflanze wurde mittels Nadelpunktur in den Stengel in einiger Entfernung vom Blatt geimpft (Symptome an der Blattspreite von derselben Pflanze sind in Fig. 30 dargestellt). Der Schnitt wurde mit Karbolfuchsin gefärbt und mit 50-proz. Alkohol gewaschen.

In Fig. 29 sieht man einen Schnitt wie in Fig. 28, aber von einer anderen Kohlpflanze (No. 80 dieser Reihe von Infektionsversuchen) stammend. Diese Pflanze wurde infiziert durch einige Wegschnecken, welche vorher mit einer von einer Reinkultur geimpften und erkrankten Pflanze gefüttert wurden. Die 2 obersten großen Bündel zur Linken sind, wie gewisse in Fig. 28, nur teilweise von *Pseudomonas* erfüllt. Der Rest mit Einschluß aller der kleinen Bündel ist mit Bakterien überfüllt. Bakterielle Höhlen sind in den meisten Bündeln. Mit Karbolfuchsin gefärbt und mit 50-proz. Alkohol gut gewaschen. Wie in Fig. 28 ist das Parenchym zwischen den Bündeln noch ganz frei von Bakterien, welche sich lediglich in den Gefäßbündeln vorwärts gedrängt haben, wie ich früher schon beschrieben habe (dieses Centralblatt. Bd. III. 1897. p. 284, 408 u. 478).

Symptome beim Kohl, hervorgerufen durch Impfung mit Reinkultur von *Pseudomonas campestris*, ist auch in Fig. 30, welches ein Fragment einer Blattspreite von derselben Pflanze ist, wie in Fig. 28, dargestellt (No. 42 der Reihe). Jedes Gefäßbündel ist schwarz gefärbt und viele der Gefäße sind voll von *Pseudomonas*. Diese Photographie wurde hergestellt mit durchfallendem Licht, nachdem das Blatt 3 Jahre lang in Alkohol gelegen hatte. Sogar längerer Aufenthalt in Alkohol konnte die dunkle Färbung

nicht entfernen. Man vergleiche diese Figur mit Tafel 3, Fig. 1 meiner Abhandlung in der Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VIII. Heft 3. Der einzige Unterschied ist, daß dort eine natürliche Infektion durch Wasserporen und hier eine künstliche mit einer Reinkultur und durch Nadelpunktur stattgefunden hatte.

In Fig. 31 sieht man einen kleinen Teil eines Bündels von Fig. 29, die anfangende Invasion durch Bakterien zeigend. Viele Gefäße sind noch nicht angegriffen, auch Höhlungen sind noch nicht gebildet. Gefärbt mit Karbolfuchsin.

In Fig. 32 sind dargestellt die Bakterien einer der kleineren Gefäßbündel der Blattspreite (wie in Fig. 30 gezeigt wurde), mit Karbolfuchsin gefärbt wie in Fig. 34, aber zufälligerweise aus den Spiralgefäßen gequetscht beim Einlegen in Kanadabalsam.

Fig. 33 zeigt dasselbe wie in Fig. 32, aber aus einem anderen Gefäßbündel herausgequetscht.

Ein kleiner Teil des in Fig. 30 dargestellten Blattes ist in Fig. 34 stark vergrößert. Der Schnitt, welcher parallel zur Oberfläche geführt ist, ist mit Karbolfuchsin gefärbt und gut gewaschen mit 50-proz. Alkohol, wodurch die mit Bakterien gefüllten sehr kleinen Gefäßbündel stark in den Vordergrund treten. Häufig sind die Bakterien in diesem Stadium der Krankheit, wie hier, nur in den Bündeln zu finden, während das sogar unmittelbar angrenzende Parenchym noch lebt. In anderen Fällen dagegen findet man die Bakterien aus den Gefäßen in das dicht anliegende Parenchym vorgetreten und dasselbe abtötend. Meine Blattdurchschnitte zeigen zahlreiche Fälle, wie die hier dargestellten, aber viel klarer wie in der Photographie.

In Fig. 35 sieht man ein kleines Fragment von Fig. 28, vergrößert, um die bakterielle Höhlung in der Mitte des kleinen Gefäßbündels zu zeigen. Das umgebende Parenchym ist noch gesund. Bakterien sind nur als eine feine Granulation sichtbar, infolge der schwachen Färbung mit Methylenblau. Die Anwendung von starken Färbungsmitteln erteilt auch den Zellwandungen eine sehr starke Färbung, wie aus der nächsten Figur ersichtlich wird.

Ein Teil einer Höhlung in einem Gefäßbündel, zum Vergleich mit Fig. 35 aber mehr vergrößert, von einem anderen Kohlblatt, und mit Karbolfuchsin gefärbt, ist in Fig. 36 dargestellt.

Endlich bespreche ich den Spaltpilz der Kartoffel, welcher die Braunfäule herbeiführt.

Symptome, erzeugt in der Kartoffelpflanze (*Solanum tuberosum*) sowohl auf Knollen als auf Stengeln durch Einimpfung von Reinkultur von *Bacillus Solanacearum*, erkennt man in Fig. 37. Die Impfstiche wurden 15 Tage früher bei x gemacht. Diese Figur ist eine Reproduktion der lithographischen Tafel in Bull. 12, Division of Vegetable Physiology and Pathology, U. S. Department of Agriculture, und ist zur Orientierung hier eingeführt. Fig. 38 und 40, welche das Anfangsstadium der Krankheit zeigen, sind Schnitte von den Punkten y und z . [Fig. 37, 1) am untersten Teile und 37, 5.)]

In Fig. 38 sieht man einen Durchschnitt durch einen Kar-

toffelstengel von Punkt *y* Fig. 37. Der photographierte Teil zeigt Bakterien nur an 2 Punkten des Gefäßbündelringes bei *a*. Epidermis oben und Mark unten. Schnitt gefärbt mit Karbolfuchsin und mit 50-proz. Alkohol gut gewaschen.

Ein kleiner Teil eines anderen Schnittes von demselben Teil desselben Stammes ist in Fig. 39 zu sehen. Ein Gefäß ist frei, 2 andere mit Bakterien überfüllt. Das Parenchym und Bindegewebe ist ebenfalls noch intakt. In einem späteren Krankheitsstadium ist das Innere des Stengels voll von Bakterienhöhlen.

Ein kleiner Teil des Gefäßbündelringes der Kartoffelknollen von Fig. 37 *s*, das Anfangsstadium der Fäulnis durch *Bacillus Solanacearum* zeigend, ist in Fig. 40 dargestellt. Rinde und Mark sind noch ganz frei von Bakterien, obschon der Gefäßbündelring mit Bakterien überfüllt ist. Größere Höhlen sind in der Gefäßgruppe zur Rechten. Schnitt gefärbt mit Karbolfuchsin und gewaschen mit Alkohol und Wasser (50-proz.), bis die Stärkemehlkörner und das Gewebe entfärbt waren. Das Parenchym bei einigen dieser Gefäße zeigt beginnende Infektion. Die Infektion wurde nur an einem Platz durch Nadelstiche hergestellt, 7 dm weiter hinauf am Stengel, doch sind die Bakterien in 50 Tagen bis hierher gedrungen, und zwar nur durch das Gefäßbündelsystem.

In Fig. 41 sieht man 2 Parenchymzellen aus unmittelbarer Nähe eines des in Fig. 40 dargestellten Bündels. Die Umrisse der Zellwandung sind noch bei *x* sichtbar. Die dunkleren Teile entsprechen ebenfalls Massen von Bakterien, dunkel gefärbt mit Karbolfuchsin.

Eine andere Ansicht von derselben Knolle befindet sich in Fig. 42. Bei *y* kann man eine Gefäßwandung erkennen, das übrige besteht aus desorganisiertem Parenchym, erfüllt mit Bakterien. Auf allen Seiten ist Gewebe, welches von Bakterien frei ist, d. h. noch ganz gesund wie in Fig. 40. Die dunkel gefärbten Teile sind mit Karbolfuchsin gefärbte Bakterien.

In Fig. 43 ist ein kleiner Teil eines desorganisierten Parenchyms von dem inneren Teil desselben Stengels wie in Fig. 38 zu sehen. Er ist mit Bakterien erfüllt.

Ferner wünsche ich, die Erklärung zu wiederholen, daß während jeder dieser 3 Mikroben die Zellwandung auflösen und zahlreiche Höhlen in den Wirtspflanzen erzeugen kann, entwickelt doch keine von ihnen Sumpfgas oder irgend ein anderes Gas. Einer von ihnen ist fakultativ anaërob (*Bacillus tracheiphilus*), die anderen 2 sind strikt aërob. Wenigstens war ich noch nicht imstande, irgend ein Nährmedium zu finden, welches dieselben veranlassen konnte, in dem verschlossenen Ende eines richtig konstruierten Gärungskolbens zu wachsen.

Zum Schlusse will ich noch darauf hinweisen, daß Fischer's Bemerkungen in seinen „Vorlesungen“ und „Antwort“ in betreff der Existenz bakterieller Pflanzenkrankheiten in höherem Grade als in irgend einem mir erinnerlichen Falle zeigt, wie gefährlich

es ist, bei der Anfangsentwicklung eines neueren Zweiges der Wissenschaft eine kategorische Verneinung auszusprechen.

Tafelerklärung.

Tafel I.

Fig. 1. *Cucumis melo*, 7 Tage nach Impfung mit *Bacillus tracheiphilus*.

Fig. 2. Kontrollpflanze.

Tafel II.

Fig. 3. Stengeldurchschnitt von *Cucumis sativus*, *Bacillus tracheiphilus* in Gefäßbündeln zeigend. Vergr. ca. 12mal.

Fig. 4. Radialer Längsschnitt eines durch *Bac. tracheiphilus* erkrankten Stengels von *Cucumis sativus*. Vergr. ca. 28mal.

Tafel III.

Fig. 5. Gefäßbündel von *Cucumis sativus*. Spiralgefäße vollgefropft mit *Bacillus tracheiphilus*. Vergr. 65mal.

Fig. 6. Ein anderer Schnitt von demselben Gefäßbündel wie Fig. 5. Vergr. 85mal.

Fig. 7. Spiralgefäß von *Cucumis sativus*, vollgefropft mit *Bac. tracheiphilus*. Vergr. 475mal.

Fig. 8. Wie Fig. 7, aber nicht so stark vergrößert und die Krankheit weiter vorgeschritten.

Fig. 9. Durchschnitt eines getüpfelten Gefäßes von *Cucumis sativus*, erfüllt mit *Bac. tracheiphilus*. Vergr. 275mal.

Tafel IV.

Fig. 10. 2 getüpfelte Gefäße von *Cucumis sativus*, der eine von *Bac. tracheiphilus* vollgefropft, der andere normal. Vergr. ca. 133mal.

Fig. 11. Längsschnitt durch ein getüpfeltes Gefäß von *Cucumis sativus*. Normal.

Fig. 12. Radialer Längsschnitt durch einen Stengel von *Cucumis sativus*, ein mit *Bacillus tracheiphilus* überfülltes Spiralgefäß zeigend. Vergr. 112mal.

Fig. 13. Dasselbe Spiralgefäß wie in Fig. 12, aber vergrößert.

Tafel V.

Fig. 14. Radialer Längsschnitt eines Stengels von *Cucumis sativus*, einige durch *Bac. tracheiphilus* zerstörte Spiralgefäße zeigend.

Fig. 15. Radialer Längsschnitt eines Stengels von *Cucumis sativus*, 2 Tüpfelgefäße zeigend, eines ist mit *Bac. tracheiphilus* vollgefropft, das andere ist leer. Vergr. 112mal.

Fig. 16. Stückchen eines getüpfelten Gefäßes von *Cucumis sativus* mit *Bac. tracheiphilus* in den Tüpfeln. Vergr. ca. 600mal.

Fig. 17. Ein kleines Stück von Fig. 16. Vergr. 1000mal.

Fig. 18. Durchschnitt eines großen getüpfelten Gefäßes, mit *Bac. tracheiphilus* erfüllt. Vergr. 1000mal.

Tafel VI.

Fig. 19. Gefäßbündel von *Cucumis sativus*, durch *Bac. tracheiphilus* zerstört. Vergr. 60mal.

Fig. 20, 21, 22. Höhlungen in einem Stengel von *Cucumis sativus*, durch *Bac. tracheiphilus* verursacht. Vergr. 60mal.

Tafel VII.

Fig. 23. Spiralgefäß von *Cucumis sativus*, vollgefropft mit *Bac. tracheiphilus*. Vergr. 1000mal.

Fig. 24. Deckglaspräparat von *Bac. tracheiphilus*, direkt von dem sehr klebrigen Schleim aus Spiralgefäßen wie in Fig. 5 u. 6. Vergr. 1000mal.

Fig. 25. Deckglaspräparat, von einer Agarreinkultur von *Bac. tracheiphilus* hergestellt. Vergr. 1000mal.

Fig. 26—27. Geißelführende Stäbchen von *Bac. tracheiphilus*. Vergr. 1000mal.

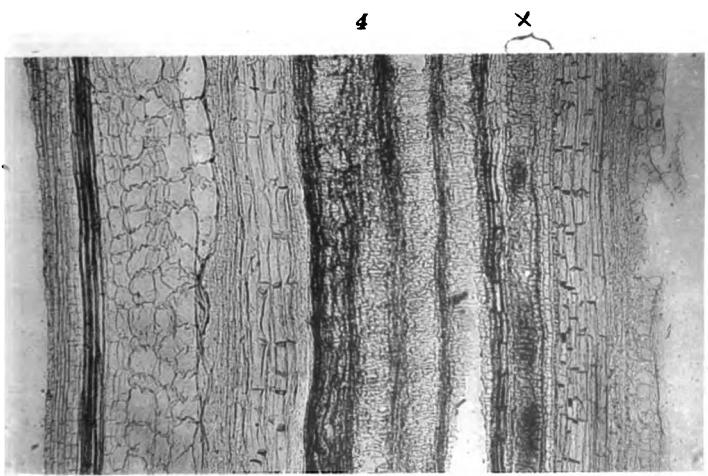
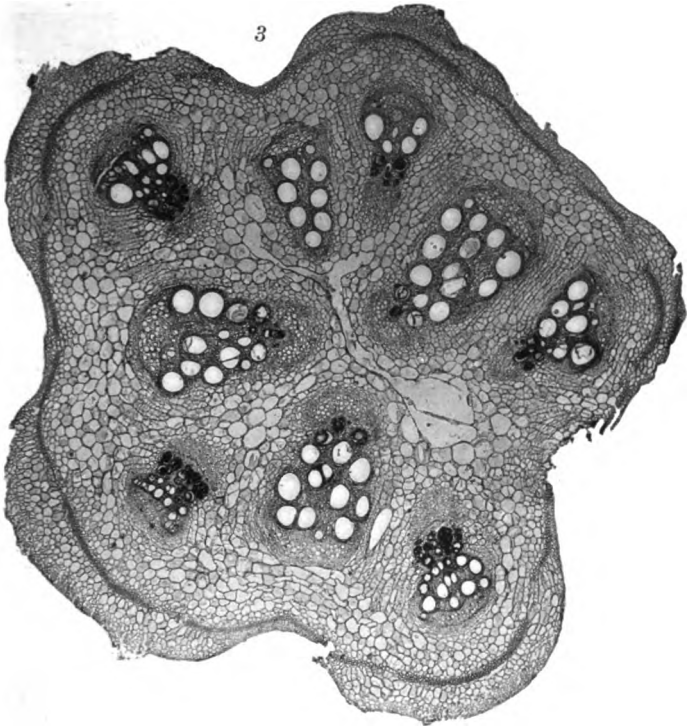
Smith, Entgegnung auf A. Fischer's „Antwort“.

Tafel I.



Bisammelonen-Pflanzen.

1. Bei *x* mit Reinkultur von *B. tracheiphilus* geimpft. 2. Kontrolle.

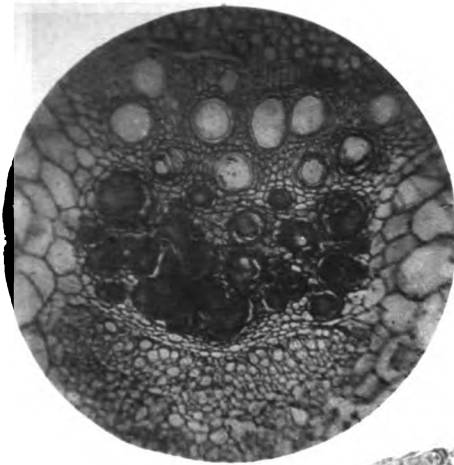


ABCD E E F G H H H H IKL M

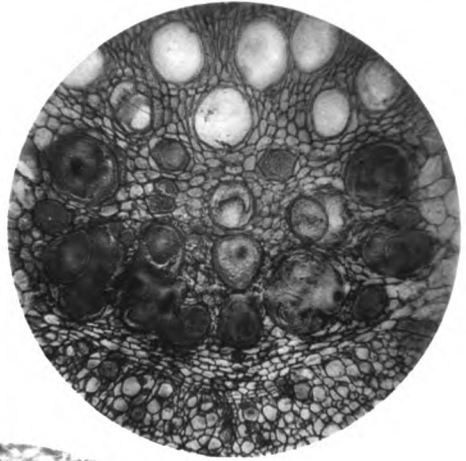
Smith photo.

Gravondruck v. J. B. Obernetter, Münch.

Bacillus tracheiphilus in Gurken-Stengeln.



5



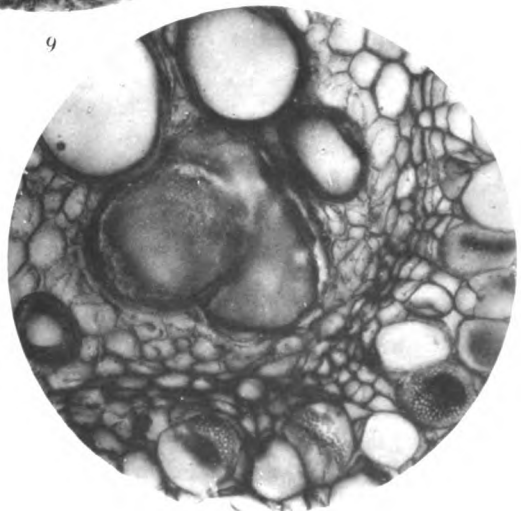
6



9



7

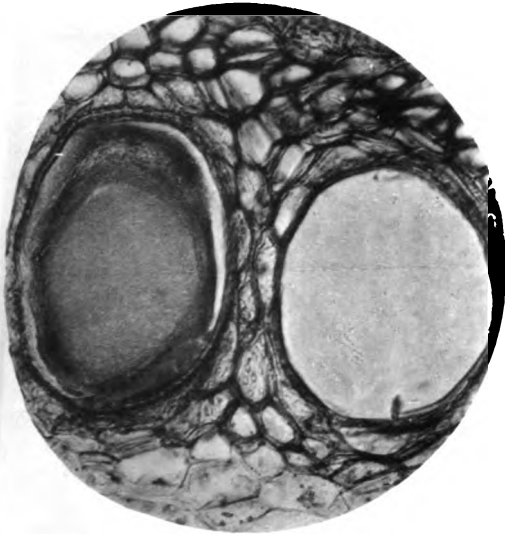


8

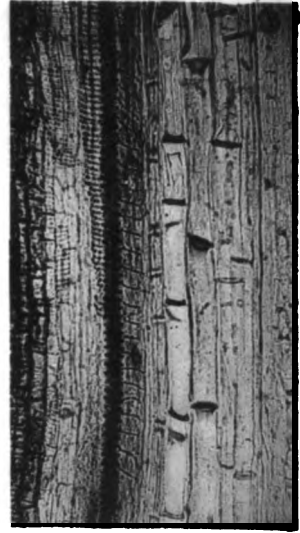
lib photo.

Crayondruck v J. B. Obernetter, München.

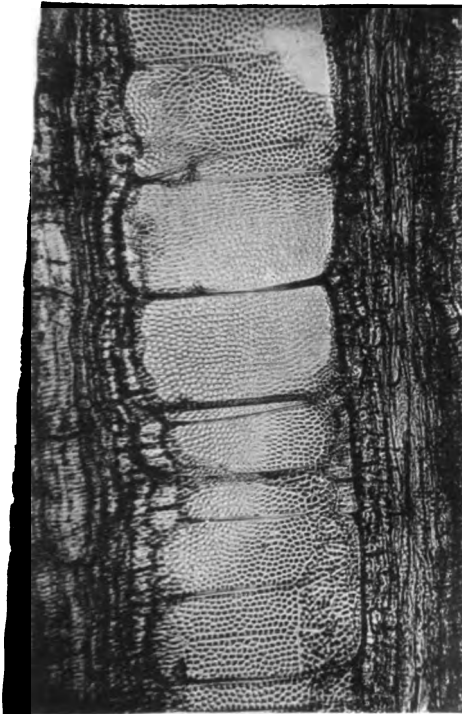
Stellung von *Bacillus tracheiphilus* in Gurken-Stengeln.



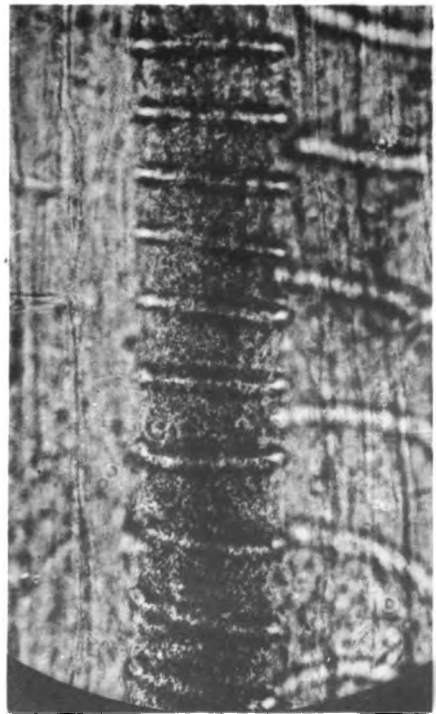
10



12



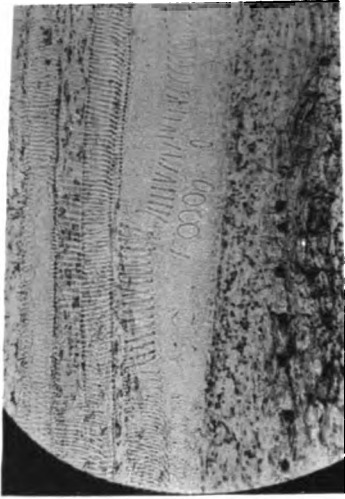
11



13

photo.

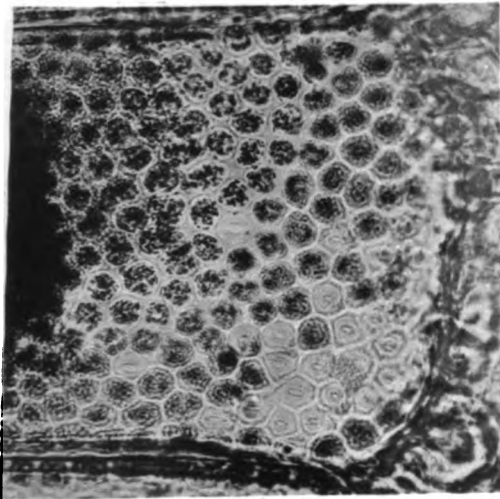
Crayondruck v. J. B. Obernetter, München



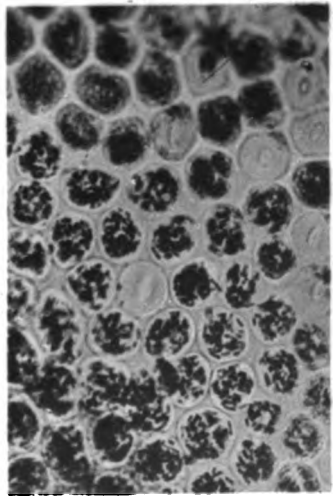
14



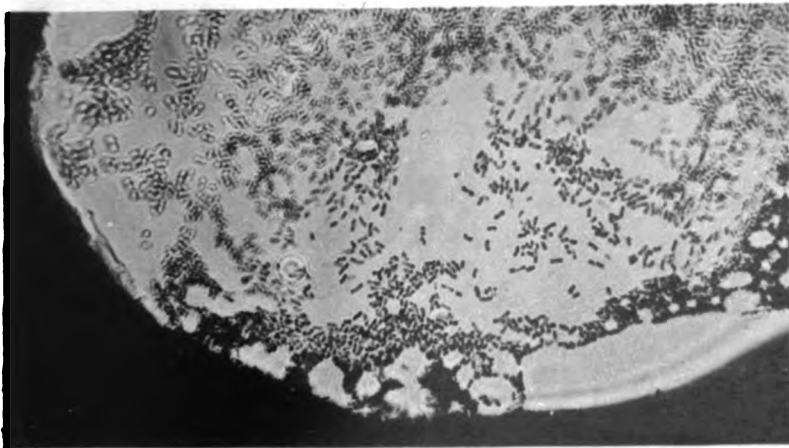
15



16



17



18

Smith, Entgegnung auf A. Fischer's „Antwort“. Tafel VI.



19



20



21



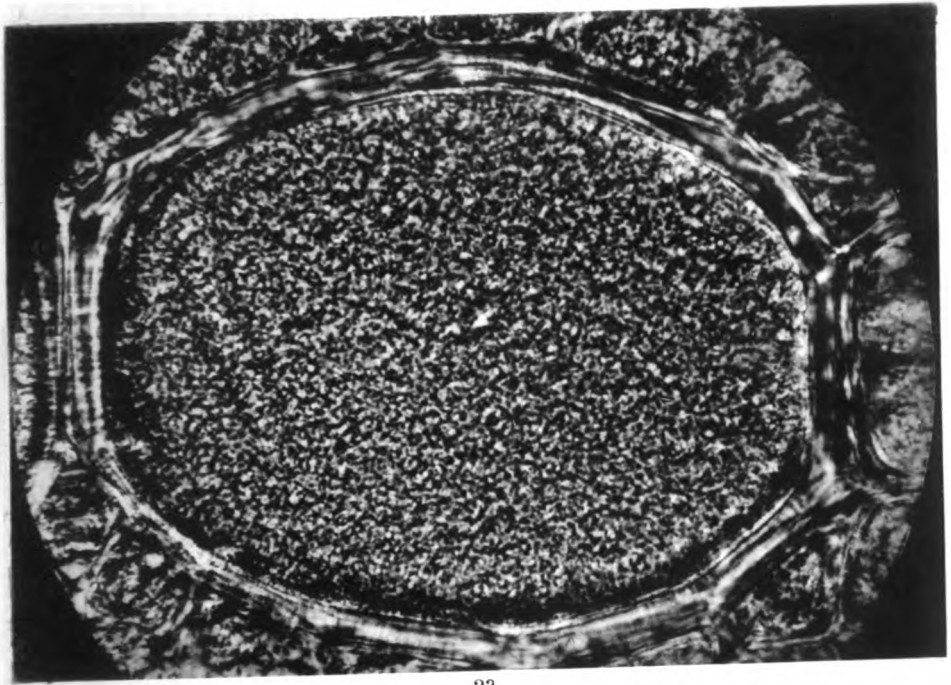
22

mith photo.

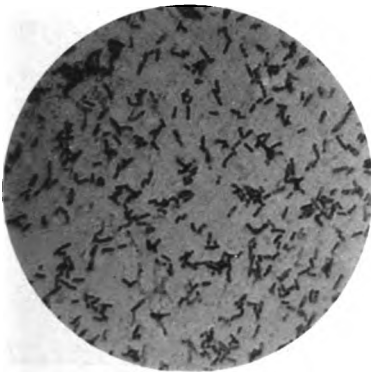
Crayondruck v. J. B. Obernetter, München.

Höhlungen in Gurken-Stengeln, verursacht durch *Bacillus tracheiphilus*.

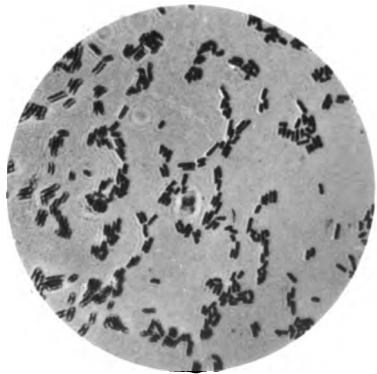
Smith, Entgegnung auf A. Fischer's „Antwort“. Tafel VII.



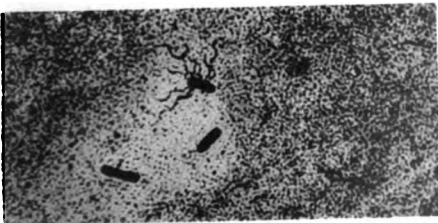
23



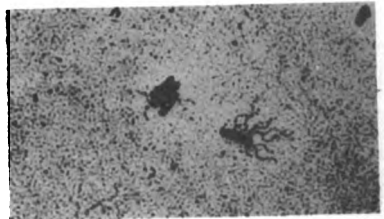
24



25



26

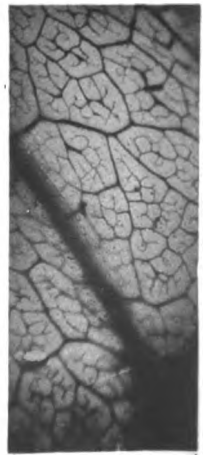
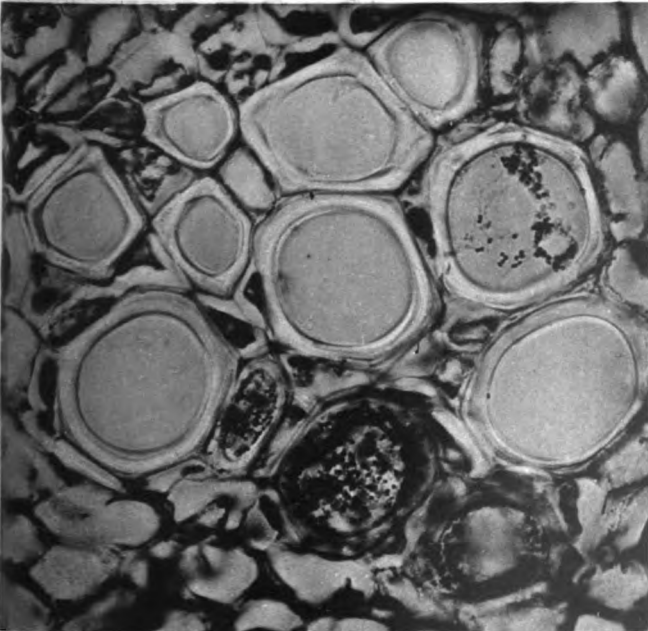
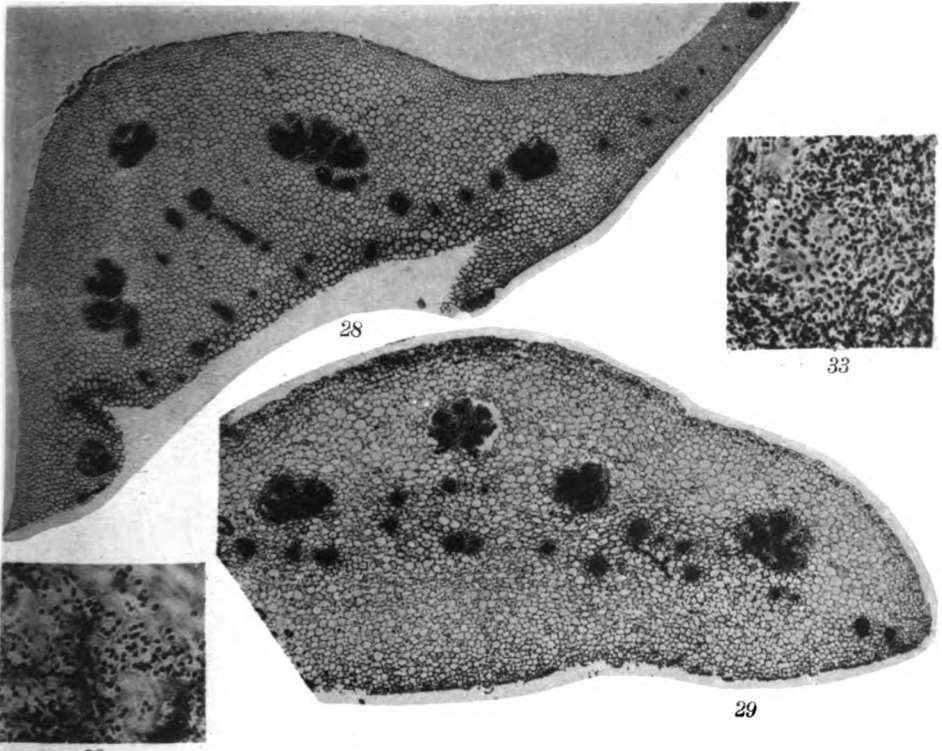


27

smith photo.

Crayondruck v. J. B. Obernetter, Münch

Bacillus tracheiphilus, parasitisch auf Cucurbitaceen.

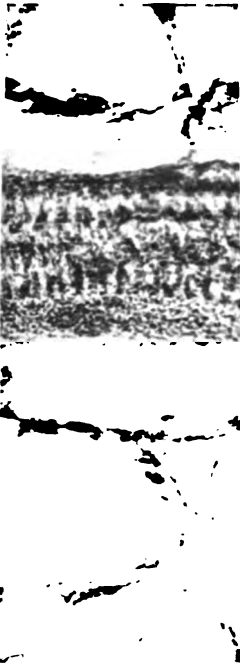


Mik Photo

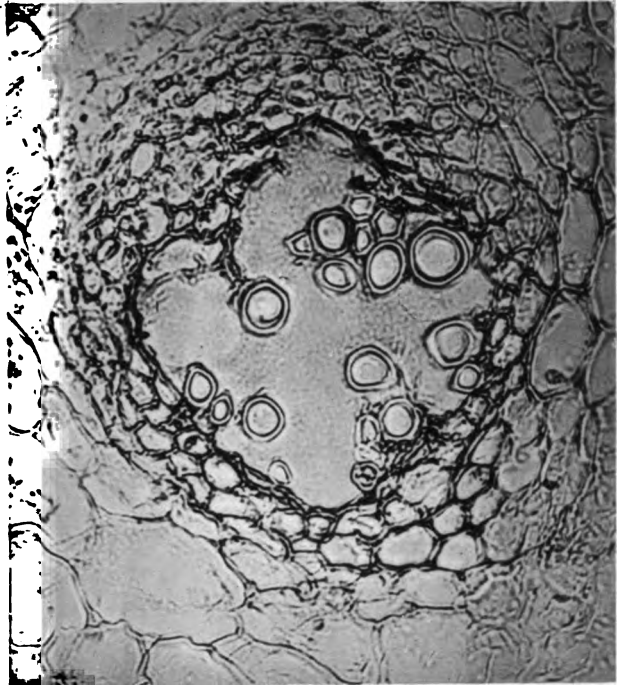
31

Crayondruck v. J. B. Obernetter, München.

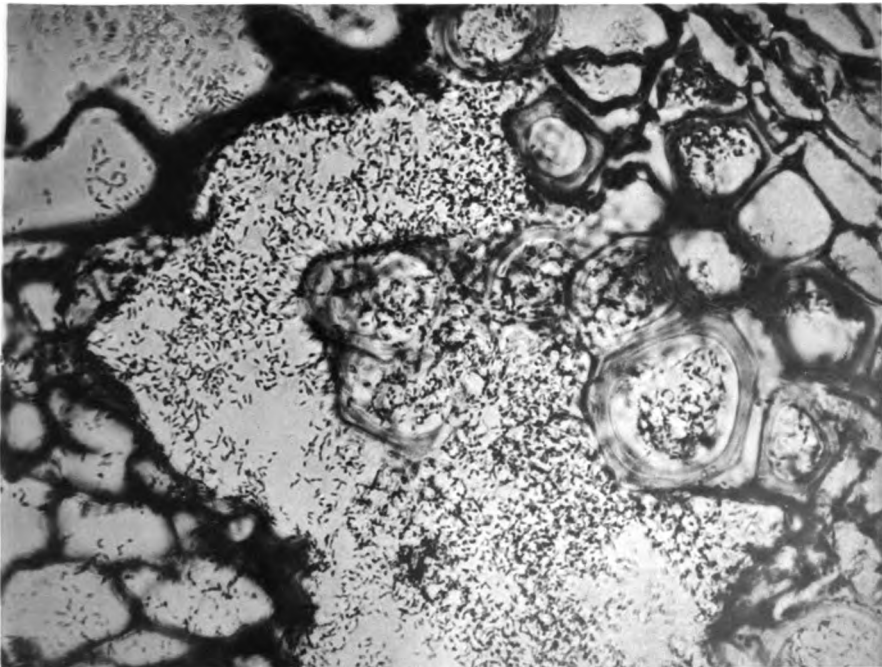
Smith, Entgegnung auf A Fischer's „Antwort“. Tafel IX.



34



35



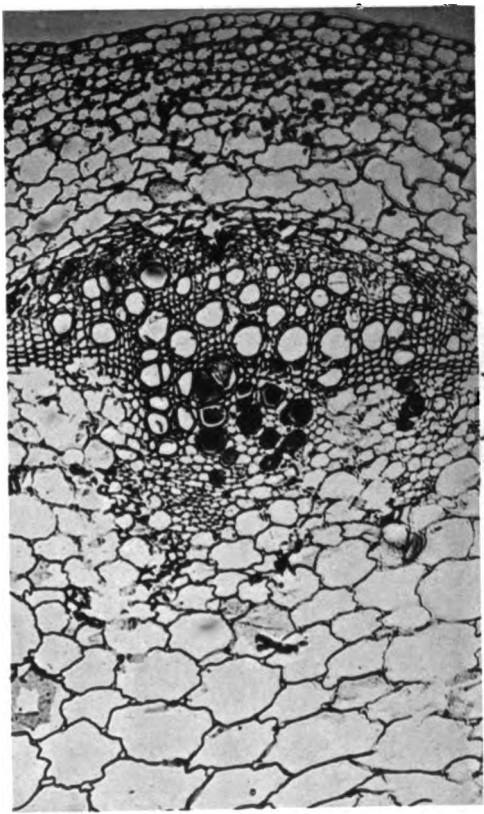
36

with photo.

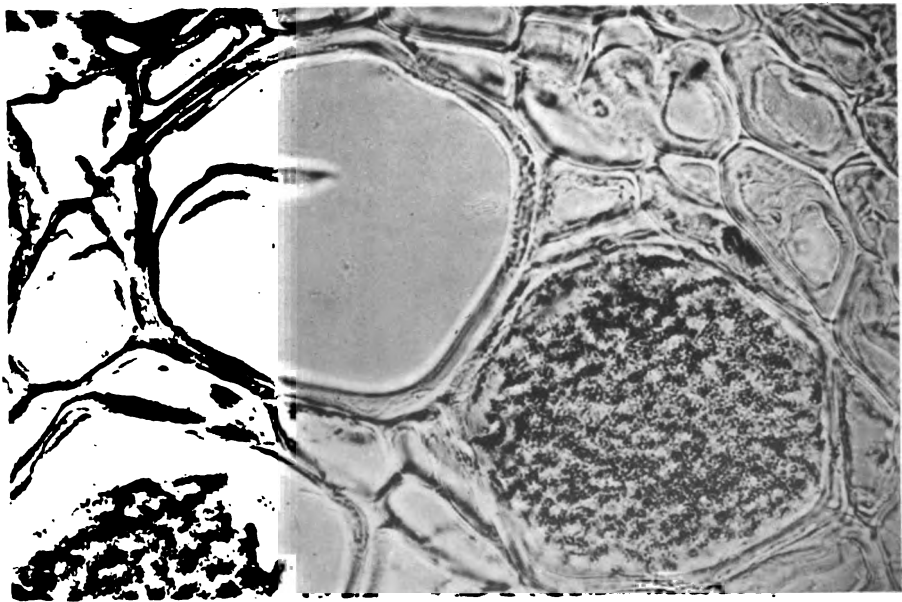
Crayondruck v. J. B. Obernetter, München



BRANCH OF THE POTATO
BACILLUS SOLANACEARUM
37



38



39

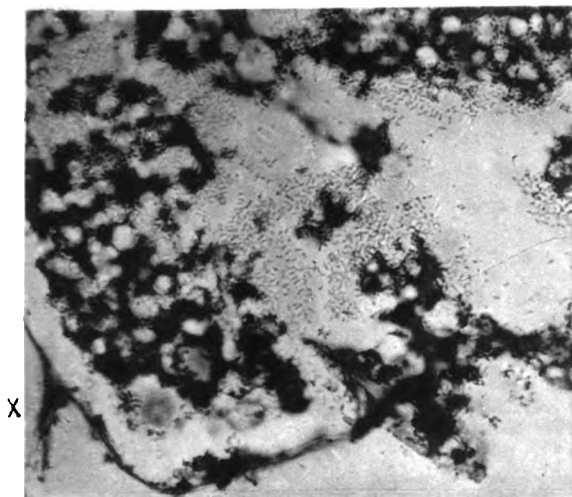
ith photo.

Crayondruck v. J. B. Obernetter, München.

Kartoffelpflanzen durch *Bacillus Solanacearum* infiziert.

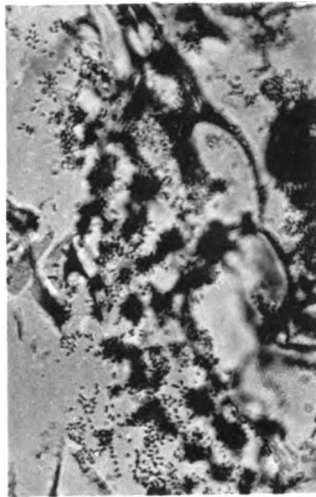
Digitized by Google

Smith, Entgegnung auf A. Fischer's „Antwort“. Tafel XI.

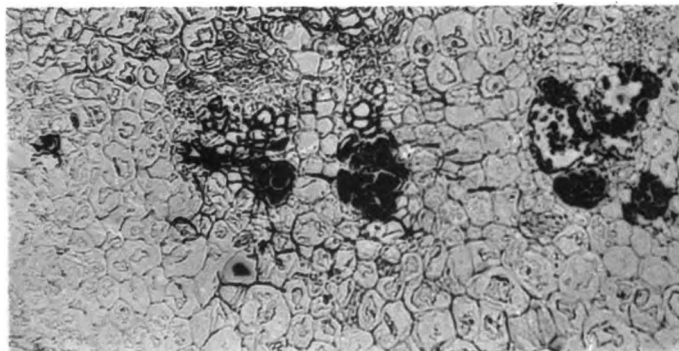


41

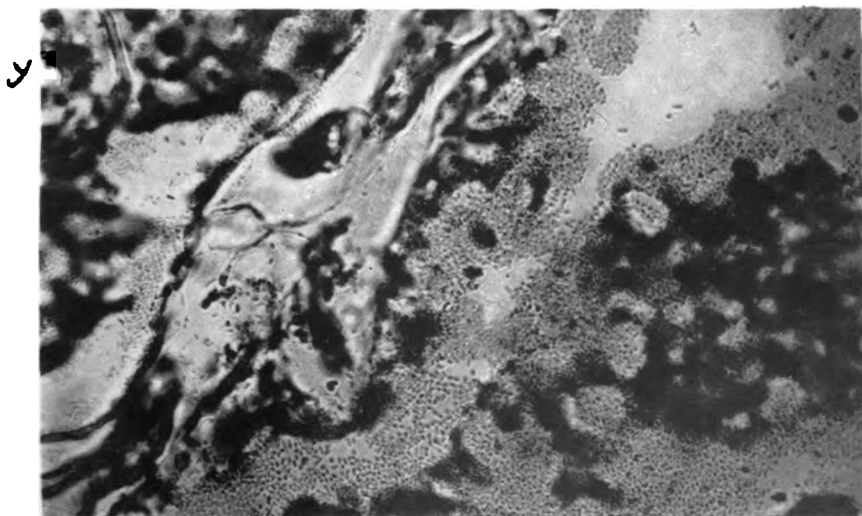
X



43



40



42

1 photo.

Crayondruck v. J. B. Obernetter, München.

Tafel VIII.

Fig. 28—29. Durchschnitte durch die Blattstiele zweier verschiedener Kohlpflanzen, mit *Pseudomonas campestris* infiziert. Vergr. 14mal u. 17mal.

Fig. 30. Stück eines Kohlblattes, mit Reinkultur von *Ps. campestris* infiziert. Aus demselben Blatt wie Fig. 28, geschwärzte Gefäßbündel zeigend. Vergr. 5mal.

Fig. 31. Durchschnitt eines Kohlblattes, Gefäße mit und ohne Bakterien. Vergr.

Fig. 32, 33. *Pseudomonas campestris*, mit Karbolfuchsin gefärbt und aus kleinen geschwärzten Gefäßbündeln in Fig. 30 herausgequetscht. Vergr. 1000mal.

Tafel IX.

Fig. 34. Ein kleines Gefäßbündel von Fig. 30, überfüllt mit Bakterien. Das herumliegende Parenchym ist noch frei. Vergr. 1000mal.

Fig. 35. Ein kleines Gefäßbündel eines Kohlblattes, durch *Pseudomonas* verzehrt. Vergr. ca. 250mal.

Fig. 36. Wie in Fig. 35, aber mit Karbolfuchsin gefärbt. Vergr. 1000mal.

Tafel X.

Fig. 37. Symptome, erzeugt durch Ueberimpfung von *Bacillus Solanacearum* in Stengel und Laub einer Kartoffelpflanze: 1) Verschrumpfte, bei α geimpfte Kartoffelstengel. 2) Kontrollpflanze. 3, 4, 5, 6 u. 7) Kartoffelknollen in verschiedenen Anfangsstadien der Krankheit; 8) Durchschnitt des basalen Teils eines wie bei 1 infizierten Stengels.

Fig. 38. Durchschnitt durch den untersten Teil von der Pflanze in Fig. 37¹. Nur in Gefäßen bei α sind Bakterien zu sehen. Vergr.

Fig. 39. Ein kleines Stück von Fig. 38 vergrößert. Vergr. 1000mal.

Tafel XI.

Fig. 40. Ein kleines Stück aus dem Gefäßbündelring von Fig. 37⁵ vergrößert, um die erfüllten Gefäßbündel zu zeigen. Vergr. 57mal.

Fig. 41 u. 42. Kleine Stücke aus der Nähe des Gefäßbündelsystems in Fig. 40. Vergr. 1000mal.

Fig. 43. Stück des Parenchyms von Fig. 38, durch *Bac. Solanacearum* zerstört. Vergr. 1000mal.

 Referate.

Hansen, Emil Chr., Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques. X. La variation des Saccharomyces. (Compte-rendu des travaux du Laboratoire de Carlsberg. T. V. 1900. Livr. 1. p. 1.)

Hansen hat im Laufe der letzten 12 Jahre in verschiedenen Zeitschriften vorläufige Mitteilungen über seine diesbezüglichen Untersuchungen veröffentlicht. Sie umfassen die Variation der Saccharomyces-Zelle, und zwar rücksichtlich Gestalt und Größe, Sporenbildung, Sprossung und chemischer Wirkung, nebst der Variation der Brauereihefe. (Siehe zwei Referate in dieser Zeitschrift. Bd. I. 1895. p. 858 und Bd. IV. 1898. p. 89.) Alle diese verschiedenen Untersuchungen sind im ersten Abschnitte der vorliegenden Abhandlung zusammengestellt und geordnet und neue Beiträge und 6 Abbildungen sind jetzt an sie geknüpft. Letztere stellen teils die Bildung des Mycel und mycelartiger Zellen dar, und zwar bei den 3 Arten: *Saccharomyces Marxianus*, *Sacch. Ludwigii* und *Carlsberg Unterhefe No. 1*, teils normale Bodensatzhefezellen zum Vergleich.

Der nächste Abschnitt umfaßt die neuen Untersuchungen Hansen's über die sporenlösen Varietäten. Es ist nur diese Variation, die sich ganz und gar experimentell beherrschen läßt, indem sie eine Regelmäßigkeit aufweist, wie in keinem anderen Falle. Hansen hat deshalb das Hauptgewicht auf dieselbe gelegt.

Seine ersten Beobachtungen über diese Variation fangen mit seinen Experimenten mit den ersten Reinkulturen seiner Brauereihefe, Carlsberg Unterhefe No. 1, an. Letztere ist eben eine Art, die durch zahlreiche Generationen dieses Phänomen aufweist. In seinen Untersuchungen aus dem Jahre 1883 über die Temperaturgrenzen für die Sporenbildung und für die Sproßbildung stellte er zugleich fest, daß das Temperaturmaximum für die Sporenbildung immer niedriger als das Temperaturmaximum für die Sproßbildung liegt. Diese Beobachtung bekam eine besondere Bedeutung für die folgenden Untersuchungen.

Wie bekannt, gelang es Hansen im Jahre 1889 zum erstenmale eine sporenlöse, konstante Varietät zu erzeugen. Er machte nämlich damals die Entdeckung, daß die Fähigkeit zur Sporenbildung der *Saccharomyces*-Vegetation vollständig abgeht, wenn letztere zahlreiche Generationen hindurch in Nährflüssigkeit bei einer Temperatur in der Nähe des Maximums der Sprossung gezüchtet wird. Die angewandte Methode ist in der Hauptsache in den zwei obengenannten Referaten besprochen. Es soll nur hier hervorgehoben werden, daß der Ausgangspunkt immer eine Vegetation war, welche eine sehr reiche Sporenbildung gab. In einigen Fällen war er eine einzelne vegetative Zelle, in anderen eine einzelne Spore. Um die Sporenbildungsverhältnisse auf den verschiedenen Stadien während der Behandlung zu untersuchen, unternahm Hansen Plattenkulturen in der Weise, daß die Zellen an der Oberfläche von Würzelgelatine mittels eines Platinpinsels ausgepinselt wurden. Die herangewachsenen Kolonien wurden dann, wenn ihre Größe es erlaubte, direkt auf feuchte Gipsblöcke zur Sporenbildung aufgetragen. Diejenigen Kolonien, welche zu klein für diese Behandlung waren, wurden in Würze eingetragen und erst die darin erzeugte Bodensatzhefe auf die Gipsblöcke angebracht. Die Hauptversuche wurden teils mit *Sacch. Past. I* bei 32° C, teils mit *Johannisberg II* bei 36° C angestellt. Als Beispiel des Resultates der Behandlung der erstgenannten Art auf den verschiedenen Stadien wird hier folgende Tabelle mitgeteilt:

Im 2. Glied wurde	1 Proz. konstant asporogene Zellen gefunden
„ 4. „ wurden	60 „ „ „ „
„ 7. „	100 „ „ „ „
" Jedes Glied " repräsentiert die Kultur während 24 Stunden."	

Aber außer diesen konstant asporogenen Zellen wurden viele Zwischenformen gefunden, d. h. solche, welche nur vorläufig die Sporenbildungsfähigkeit verloren hatten; nach der Züchtung kürzerer oder längerer Zeit in Würze wurden sie wieder sporogen. Um entscheiden zu können, ob eine Vegetation konstant asporogen ist oder nicht, wird bis 2 Jahr Züchtung gefordert. Auch in betreff

des Johannisberg II giebt Hansen ein Beispiel des Resultates der Behandlung auf den verschiedenen Stadien.

Während in den vorhergehenden Versuchen Nährflüssigkeiten zur Züchtung angewendet wurden, stellte Hansen auch zahlreiche Versuche an, wozu fester Nährboden benutzt wurde. Auf Würzegeatine bei 25° C bildeten *Sacch. cerevisiae* I und *Sacch. Pastorianus* II eine ziemlich große Anzahl konstant asporogener Zellen; ferner zeigte es sich, daß *Sacch. Pastorianus* III, *Sacch. ellipsoideus* II und Johannisberg II nur sehr wenig bildeten, und endlich, daß *Sacch. Pastorianus* I, *Sacch. ellipsoideus* I, *Sacch. Ludwigii* und *Sacch. membranaefaciens* gar keine konstant asporogenen Zellen bildeten. Auf Agar-Würzegeatine bei 34° C bildete *Sacch. anomalus* und auf demselben Substrate bei 32° C *Sacch. Pastorianus* I eine konstant asporogene Varietät.

Hansen geht dann zu der fundamentalen Frage über, ob bei der Bildung dieser asporogenen Varietäten eine Selektion oder eine Transformation vorliegt. Diese Frage wird so gut wie gar nicht in der einschlägigen Litteratur über die Variation der Pflanzen behandelt, und wenn sie diskutiert wird, sind die Anschauungen verschieden und die Ergebnisse unsicher. Die Untersuchungen über die samenlosen Formen der Phanerogamen und höheren Kryptogamen geben keine Antwort auf die obengenannte Frage. Aus den vorliegenden Mitteilungen über die asporogene Form des Milzbrandbacillus geht hervor, daß diese Varietät nicht konstant asporogen ist. Die größte Konstanz in der genannten Richtung hin bekam Phisalix, indem er die Methode Hansen's zur Züchtung benutzte.

Zur Entscheidung der Frage: Selektion oder Transformation? stellte Hansen besondere Untersuchungen mit der Hefe Johannisberg II an. In einer normalen Vegetation war es absolut unmöglich, eine einzige Zelle aufzufinden, die nicht bei normaler Züchtung eine sporogene Vegetation hervorbrachte. Der Ausgangspunkt war eine einzige Zelle, entweder eine vegetative Zelle oder eine Spore. Dieselbe Vegetation, womit der Versuch angefangen wurde, wurde in der Weise analysiert, daß wenigstens 1000 Zellen isoliert wurden und die von ihnen erzeugten Vegetationen auf Sporenbildung geprüft. In allen Fällen gaben sie eine reichliche Sporenbildung. Ferner zeigten die Versuche Hansen's, daß, sobald die Behandlung angefangen wird, die Zwischenformen, die vorläufig asporogenen Formen, auftreten. Solche wurden aber niemals in dem Ausgangspunkte gefunden und ihre Entstehung muß also der Behandlung zugeschrieben werden. Endlich ist die beschriebene Variation eine allgemeine Erscheinung, welche immer hervortritt, wenn die Zellen der genannten Behandlung unterworfen werden. Als Resultat, sowohl der Analysen des Ausgangspunktes als derjenigen der fortgesetzten Stadien der Behandlung geht also deutlich hervor, daß die während der Behandlung erscheinende Variation von einer Trans-

formation herrührt. Besonders eigentümlich ist das Verhalten, welches auch hier experimentell behandelt ist, nämlich, daß selbst wenn der Ausgangspunkt des Versuches eine einzige vegetative Zelle oder eine Spore ist, doch die folgenden 3 Kategorien während der Behandlung erscheinen: Sporogene Zellen, vorläufig asporogene Zellen und konstant asporogene Zellen; von den 2 ersten Kategorien kann man wieder eine einzelne Zelle herausnehmen, welche wieder alle die 3 genannten Kategorien erzeugt.

In betreff der Bedingungen für die Umbildung kommen die folgenden Faktoren in Betracht: Die chemische Zusammensetzung der Nährflüssigkeit, die durch das Schütteln des Kolbens erzeugten Schwingungen, die Lüftung der Nährflüssigkeit und die Temperatur.

Als Resultat der Versuche Hansen's ging folgendes hervor: Eine Nährflüssigkeit einer bestimmten chemischen Zusammensetzung ist ebensowenig wie die Schwingungen notwendig. Die Lüftung vermag ohne die hohe Temperatur auch nicht die Umbildung hervorzurufen. Sowohl von der Nährflüssigkeit, den Schwingungen als der Lüftung gilt es indessen, daß sie eine indirekte Bedeutung haben können, insofern sie mehr oder weniger die Vermehrung fördern. Die hohe Temperatur zeigte sich dagegen als der wesentlichste und absolut notwendige Faktor. Dies war auch der Fall in einigen der Versuche auf Nährgelatine; in anderen war aber die Umbildung hier von chemischen Verhältnissen bedingt.

Außer von den 2 oftgenannten Arten *Sacch. Pastorianus I* und *Johannisberg II* hat Hansen auch asporogene Varietäten von zahlreichen anderen Arten ausgehend dargestellt, und es hat sich als ein Gesetz für alle echten *Saccharomyceten* erwiesen, daß durch die genannte Behandlung immer konstant asporogene Formen gebildet werden. Die ältesten dieser sind mehr als 12 Jahre alt und haben sich trotz zahlreicher Züchtungen und unter sehr verschiedenen Verhältnissen fortwährend konstant asporogen erhalten. Die Regel ist, daß mit der Sporenbildung auch die Hautbildung verloren geht.

Klöcker (Kopenhagen).

Hiltner, L., Ueber die Ursachen, welche die Größe, Zahl, Stellung und Wirkung der Wurzelknöllchen der Leguminosen bedingen. (Arb. aus der biolog. Abt. f. Land- und Forstwirtschaft am kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. I. 1900. p. 177—222.)

Die Thatsache, daß bisher keine Leguminosenart bekannt geworden ist, bei welcher Wurzelknöllchen konstant fehlen, und daß andererseits das Vorkommen von durch Bakterien oder bakterienartige Organismen erzeugten Knöllchen sich außerhalb der zu den Leguminosen gehörigen Familien auf wenige Pflanzen, als *Alnus*-Arten, *Elaeagnaceen*, *Myrica Gale* und einige *Scrophulariaceen* beschränkt ist, läßt zunächst die Frage gerechtfertigt erscheinen, welche Eigenschaften diese letzteren, systematisch voneinander so außerordentlich abweichenden Pflanzen mit den Leguminosen gemeinsam haben, und insbesondere, welche Ursachen es

bedingen, daß die Leguminosen, wie es scheint, ausnahmslos, von Wurzelbakterien befallen werden.

Offenbar scheiden die Leguminosen ganz bestimmte Stoffe aus, die auf die Bakterien anlockend wirken. Thatsächlich sieht man auch nach einer Infizierung mit Knöllchenbakterien, daß sich letztere schon nach wenigen Stunden in der Umgebung der Wurzelhaare ansammeln. Aber auch die Wurzelausscheidungen von Nichtleguminosen wirken zum Teil anziehend auf die Knöllchenbakterien, doch vermögen letztere nicht in die Wurzeln einzudringen. Wahrscheinlich scheiden auch die Knöllchenbakterien gewisse Stoffe aus, die nur auf Leguminosenwurzeln wirken.

Zerreibt man gut ausgebildete Knöllchen der Erbse mit etwas Wasser und filtriert die Masse durch ein Chamberland-Filter, welches die Bakterien zurückhält, so gewinnt man ein vollständig klares Filtrat. Werden nun Keimpflänzchen der Erbse, die in einer stickstofffreien Nährlösung wachsen, mit diesem Filtrat geimpft, so findet man zahlreiche jugendliche Wurzelhaare nach kurzer Zeit in meist sehr auffälliger Weise verzerrt, also ganz dieselben Erscheinungen, wie sie bei den Erbsenpflanzen nach Impfung mit einer Reinkultur von Erbsenbakterien auftreten. Daraus geht unzweifelhaft hervor, daß:

- 1) diese Veränderungen an den Wurzelhaaren durch einen von den Bakterien ausgeschiedenen, wasserlöslichen Stoff hervorgerufen werden;
- 2) dieser Stoff innerhalb wirksamer Knöllchen in großer Menge angehäuft sein muß;
- 3) die älteren Wurzelhaare, die nicht die geringsten Anzeichen einer Formänderung erkennen lassen, gegen diesen Stoff immun sein müssen.

Impft man mit dem gleichen Filtrat junge Pflänzchen von *Lathyrus sylvestris*, so treten die Mißbildungen der Haare erst ein, wenn der Stickstoffvorrat des Samens ziemlich verbraucht ist und die Pflänzchen in der stickstofffreien Lösung zu hungern beginnen. Dasselbe ist in noch höherem Maße der Fall bei *Robinia*-Pflänzchen.

Jedenfalls zeigt das Verhalten der Filtrate aus Knöllchen zu verschiedenen Leguminosen eine außerordentlich scharf differenzierte Anpassung des wirksamen Stoffes an ganz bestimmte Leguminosenarten, es stimmen daher die Knöllchenbakterien der verschiedenen Leguminosenpflanzen in ihren physiologischen Eigenschaften nicht mit einander überein.

Verf. kommt nun auf die Frage der Arteinheit der Leguminosenbakterien zu sprechen. Er stellt die Arbeiten über diese Frage zusammen und versieht sie zum Teil mit kritischen Bemerkungen. Namentlich tritt Verf. den Ausführungen von Gonnemann (Landw. Jahrb. Bd. XXIII. 1904. p. 648—671) entgegen, wonach die Knöllchen unserer einheimischen Leguminosen durch sehr verschiedenartige Bakterien erzeugt würden. Die Versuche des Verf.'s haben ausnahmslos ergeben, daß die Knöllchenbakterien der verschiedensten Leguminosen und selbst der Mimosaceen

einander morphologisch außerordentlich ähnlich sind. Von einer Verschiedenheit, wie sie **Gonnermann** konstatiert, kann daher keine Rede sein. Daß manche nicht unwesentliche Gründe auch gegen die Arteinheit sprechen, ist allerdings nicht zu verkennen. In erster Linie ist hier die verschiedene Gestalt der Bakteroiden bei den verschiedenen Gattungen und Arten der Leguminosen zu erwähnen.

Jedenfalls ist die Frage nach der Arteinheit der Knöllchenbakterien eine ziemlich komplizierte. Der Umstand, daß sich z. B. Erbsenbakterien in Bohnenbakterien überführen lassen (vergl. diese Zeitschr. 1900. No. 14. p. 449), deutet darauf hin, daß es sich nur um Anpassungsformen handelt.

Die Versuche bezüglich der Menge des Impfstoffes ergaben keine wesentlichen Unterschiede. Die Impfung erwies sich, wie das Verhältnis der geimpften Pflanzen zu den ungeimpften zeigte, als außerordentlich erfolgreich; aber weder in der Menge des assimilierten Stickstoffs, noch in der Zahl und Größe der Knöllchen waren Unterschiede bemerkbar. Ganz anders aber verhält sich die Sache, wenn man Pflanzen, die bereits thätige Knöllchen besitzen, nachträglich noch mit Bakterien von höherer Virulenz impft. In diesem Falle wird die Zahl und Größe der Knöllchen noch bedeutend gesteigert. Thätige Knöllchen verleihen der Pflanze Immunität gegen Bakterien von gleichem oder niedrigerem Virulenzgrade, als ihn die in den Knöllchen bereits enthaltenen Bakterien besitzen; nur Bakterien von höherer Virulenz vermögen noch in die Wurzeln einzudringen.

Einen weiteren großen Einfluß auf die Knöllchenbildung übt auch der Ernährungszustand der Pflanzen aus. In einem Boden, der den Pflanzen einen guten Ernährungszustand verleiht, vermögen nicht voll angepaßte Bakterien nicht in die Wurzeln einzudringen, man wird daher in der Regel an solchen Pflanzen weniger Knöllchen finden.

Verf. hatte eigentlich die Absicht, über die Größen- und Zahlenverhältnisse der Knöllchen der wichtigsten Leguminosen vergleichende Angaben zu bringen, kam jedoch bald zu der Ueberzeugung, daß diese Aufgabe viel schwieriger zu erledigen ist, als es auf den ersten Blick erscheint. Die hierüber eingeleiteten Versuche sind noch im Gange, über die Resultate wird Verf. später berichten.

Reinmann (Hildesheim).

Weil, Die Entstehung des Solanins in den Kartoffeln als Produkt bakterieller Einwirkung. (Archiv für Hygiene. Bd. XXXVIII. 1900. Heft 4.)

In den Jahren 1892 bis 1898 waren in Straßburg unter den Mannschaften verschiedener Bataillone des XV. Armeekorps nach dem Genuß keimender oder nicht ausgereifter Kartoffeln Massenerkrankungen vorgekommen, die auf einen hohen Solaningehalt der Kartoffeln zurückzuführen waren. Quantitative Bestimmungen, ausgeführt von **Schmiedeberg** und **Meyer**, gaben einen Alkaloidgehalt, der für das Zustandekommen einer Vergiftung ausreichte.

Da dieser hohe Solaniningehalt nicht bedingt sein konnte durch den Keimungsprozeß, noch durch den Wasserverlust der eingeschrumpften Kartoffeln und der damit verbundenen Trockensubstanzvermehrung, wurde von Schmiedeberg und Meyer die Vermutung ausgesprochen, die Solaninbildung dürfte durch bakterielle Einwirkung hervorgerufen worden sein. Um diese Vermutung auf ihre Richtigkeit zu prüfen, untersuchte Verf. die fraglichen Kartoffeln auf das Vorkommen von solaninbildenden Bakterien. Im ganzen wurden 13 verschiedene Bakterienarten isoliert, von denen 12 noch nicht beschrieben waren und deshalb von Verf. im Original genau charakterisiert und mit Namen belegt wurden. Von diesen waren nur zwei imstande, in Kartoffelwasser geimpft, Solanin zu bilden, diese beiden Arten nennt Verf.: *Bacterium solaniferum non colorabile* und *Bact. solaniferum colorabile*. Beides sind Stäbchen, welche die Gelatine nicht verflüssigen. Bezüglich der näheren Beschreibung möchte Ref. auf die Originalarbeit verweisen. Zur quantitativen Bestimmung der unter dem Einfluß der Bacillen entstandenen Solaninmenge impfte Verf. mit beiden Bacillen je 6 l Kartoffelwasser. Nach Verlauf von 2 Monaten war in sämtlichen Kulturen reiche Entwicklung erfolgt. Aus den 6 l der mit *Bact. solaniferum non colorabile* geimpften Brühe wurden 0,041 g Solanin erhalten, während *Bact. solaniferum colorabile* unter den gleichen Bedingungen 0,073 g Solanin bildete. Die genannten Bakterien bildeten in Loeffler'scher Bouillon kein Solanin, obwohl sie sich gut entwickelten in diesem Nährboden. Es dürfte dies wohl als Beweis dafür dienen, daß die Bacillen das Alkaloid nicht in fertigem Zustand in ihren Zellen enthalten, sondern dasselbe aufbauen. Die von Schmiedeberg und Meyer geäußerte Vermutung, daß der hohe Solaniningehalt der Kartoffeln ein bakterielles Produkt sei, dürfte somit ihre Richtigkeit haben, und die Annahme, daß das direkt nach der Ernte in den Kartoffeln vorhandene Solanin vielleicht ein Drüsensekret der Kartoffel selbst sei, verliert an Wahrscheinlichkeit. Auch diese geringe Solaninmenge dürfte ein Ablagerungsprodukt von Stoffen sein, die direkt oder indirekt von den Solaninbildnern hervorgebracht worden sind. Dafür spricht namentlich der Sitz des meisten Solanin in der Kartoffelschale. Durch die Spaltöffnungen derselben können die Solaninbildner in die Epidermis eindringen und dort das Alkaloid ablagern. Wird das Parenchym lockerer und treten aus irgend einem Grunde krankhafte Veränderungen in der Kartoffel selbst auf, dann wandern sie in das Innere und verursachen in der Kartoffel selbst die auffallende Steigerung des Solaniningehaltes.

Thomann (Bern).

Trübswetter, Zur Frage der Kieferschütte. (Forstwissenschaftliches Centralblatt. Jahrg. XXII. No. 9—10.)

Der Verf. hält dafür, daß die Pflanzen, welche durch den Schüttelpilz stark erkranken oder absterben, eine Prädisposition oder schon ausgesprochene Kränklichkeit (z. B. von Frostwirkung, von zu dichtem Bestande oder sonst kümmerlicher Ernährung) zeigen.

Daher erkennt er den Bekämpfungsmitteln, die die jungen Pflanzen vor den schädlichen Einflüssen stärkerer Temperaturschwankungen bewahren, auch eine Wirksamkeit gegen die Schütte zu.

Die zu diesem Zwecke manchmal angewandte Bedeckung durch auf einem Gestelle liegendes Schutzreisig ist aber nach den Versuchen des Verf.'s nicht ausreichend, vielmehr hat sich eine direkte Eindeckung der Pflanzen mit Wachholderreisig als zweckentsprechend erwiesen. Neben Wachholder empfiehlt Verf. noch Zweige von Weymouthskiefer; Fichten- und Tannenzweige sind weniger empfehlenswert wegen ihres glatten Aufliegens.

Schimmelbildung oder sonstige Schädigung der jungen Pflanzen hat Verf. bei seinen Versuchen nicht konstatieren können.

Appel (Charlottenburg).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. ARTHUR WÜRZBURG,
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

- Casagrandi, O.**, La tecnica della filtrazione nei laboratori di bacteriologia. (Annali d'igiene sperim. Vol. X. 1900. Fasc. 4. p. 462—469.)
- Dastre, A.**, De la dialyse chloroformique comme procédé de recherche des ferments endo-cellulaires. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1901. No. 2. p. 34—35.)
- Paul, Th.**, Die Anwendung des Sandes zum schnellen Filtrieren des Nährgärs. (Münch. med. Wchschr. 1901. No. 3. p. 106—108.)
- Pedersen, L. K.**, Pasteuriseringsapparater. (Maelkeritidende. 1901. No. 3. p. 42—43.)
- Smith, J. B.**, Note on the staining of flagella. (Brit. med. Journ. 1901. No. 2091. p. 205—206.)
- Wright, J. H.**, A simple method of cultivating anaërobic bacteria. (Journ. of the Boston soc. of med. scienc. Vol. V. 1900. No. 4. p. 114—115.)
- , A method for the cultivation of anaërobic bacteria. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXIX. 1901. No. 2. p. 61.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

- Albert, E.**, Einfacher Versuch zur Veranschaulichung der Zymasewirkung. (Ber. d. dtsh. chem. Gesellsch. 1901. No. 19. p. 3775—3778.)
- Bokorny, Th.**, Enzym und Protoplasma. (Allg. Brauer- u. Hopfen-Ztg. 1900. No. 19. p. 209—210.)
- Brown, A. W.**, Protozoa. Report for 1899. (Zool. Record. Vol. XXXVI. 1900. 26. p.)
- Caullery, M. et Mesnil, F.**, Le parasitisme intracellulaire et la multiplication asexuée des grégaires. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1901. No. 4. p. 84—87.)
- Chamot, E. M. and Thiry, G.**, Studies on chromogenic bacteria. I. Notes on the pigment of bacillus polychromogenes. (Botan. Gaz. 1900. Dec. p. 378—393.)
- Fokker, A. P.**, Die Entstehung von Milchsäurebacillen aus Granula. [Vorl. Mitteil.] (Dtsche med. Wchschr. 1901. No. 5. p. 69.)
- Gérard, E.**, Transformation de la créatine en créatinine par un ferment soluble déshydratant de l'organisme. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXII. 1901. No. 3. p. 153—155.)
- Giard, A.**, Sur un nouveau tyroglyphide (*Trichotarsus manicati*, n. sp.) [Acar.], parasite d'*Anthidium manicatum* L. et sur le genre *Trichotarsus*. (Bullet. de la soc. entomol. de France. 1900. No. 19. p. 375—377.)

- Green, J. E.**, Die Enzyme. Deutsch von W. Windisch. gr. 8°. XII. 490 p. Berlin (Parey) 1900. 16 M.
- Guilliermond**, Recherches sur la structure de quelques champignons inférieurs. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXII. 1901. No. 3. p. 175—178.)
- Haase, C.**, Primär verkalkte Trichinen. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1901. Heft 5. p. 143—145.)
- Hanriot**, Influence de la température sur les ferments. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1901. No. 3. p. 58—59.)
- Hanriot, M.**, Sur le mécanisme des actions diastasiques. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXII. 1901. No. 3. p. 146—149.)
- Henri, V.**, Note sur l'action de la température sur le ferment inversif. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1901. No. 3. p. 59.)
- Henri, V. et Poseraki**, Considérations théoriques relatives à l'influence de la température sur le ferment inversif de la levure de bière. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1901. No. 2. p. 28.) — **Dastre**, Note à propos de la communication précédente. (Ibid. p. 28—29.)
- Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den Gärungsorganismen. Bearb. u. hrsg. v. A. Koch. Jahrg. IX. 1898. gr. 8°. VIII. 343 p. Leipzig (S. Hirzel) 1901. 12 M.
- Katsurada, F.**, Beitrag zur Kenntnis des Distomum Westermanni. (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. Bd. XXVIII. 1900. Heft 3. p. 506—523.)
- Lang, A.**, Lehrbuch der vergleichenden Anatomie der wirbellosen Tiere. 2. Aufl. 2. Liefg. Protozoa. Vollständig neu bearb. v. A. Lang. gr. 8°. VI. 311 p. m. 259 Abbildgn. Jena (Gustav Fischer) 1901. 10 M.
- Leclainche, E. et Vallée, H.**, Notes sur les anticorps albumineux. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1901. No. 3. p. 51—53.)
- Lühe, M.**, Ueber Monostomum orbiculare. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXIX. 1901. No. 2. p. 49—60.)
- Meerwartk, H.**, Die Randstruktur des letzten Hinterleibssegmentes von *Aspidiotus perniciosus* Comst. [Aus „Jahrb. d. hamb. wiss. Anstalten. 3. Beiheft.“] Lex.-8°. 15 p. m. 5 Abbildgn. u. 1 Taf. In Komm. Hamburg (Lucas Gräfe & Sillem) 1901. 0,80 M.
- McKendrick, J. S.**, The presence of enzymes in normal and pathological tissues. (Veterin. Journ. 1901. Jan. p. 38—52.)
- de Namur, V.**, Le pouvoir diastasiq. (Bullet. prat. du brasseur. 1900. p. 477—479.)
- v. Ofenheim, E.**, Ueber eine neue Distomidengattung. (Ztschr. f. Naturwissensch. Bd. LXXIII. 1900. Heft 3/4. p. 145—186.)
- Packard, F. A.**, *Taenia flavopunctata* with description of a new specimen. (Journ. of the Amer. med. assoc. Vol. XXXV. 1900. No. 24. p. 1551—1553.)
- Perrilleux**, Recherche du ferment amylolytique dans le foie. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1901. No. 2. p. 32—34.)
- Poseraki**, Influence de la température sur le ferment inversif de la levure de bière. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1901. No. 2. p. 26—28.)
- Ravn, F. Kölpin**, Nogle helminthosporium-arter. 8°. Kopenhagen (Gad) 1900. 3 kr. 50 ø.
- Reh, L.**, Ueber *Aspidiotus ostreaeformis* Curt. und verwandte Formen. [Aus „Jahrb. d. hamb. wiss. Anstalten. 3. Beiheft.“] Lex.-8°. 13 p. m. 1 Abbildg. In Komm. Hamburg (Lucas Gräfe & Sillem) 1901. 0,50 M.
- , Züchtergebnisse mit *Aspidiotus perniciosus* Comst. [Aus „Jahrb. d. hamb. wiss. Anstalten. 3. Beiheft.“] Lex.-8°. 21 p. m. 1 Abbildg. Ibid. 0,50 M.
- , Versuche über die Widerstandsfähigkeit von Diapsinen gegen äußere Einflüsse. (Biolog. Centralbl. 1900. No. 22, 23/24. p. 741—751, 799—815.)
- Saint-Remy, G.**, Sur l'embryologie du *Taenia serrata*. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXII. 1901. No. 1. p. 43—45.)
- Sambon, L. W.**, Notes on the life-history of „*Anopheles maculipennis*“ (Meigen). (Brit. med. Journ. 1901. No. 2091. p. 195—199.)
- Schmidt-Nielsen, S.**, Beitrag zur Biologie der marinen Bakterien. (Biol. Centralbl. 1901. No. 3. p. 65—71.)
- Tarchetti, C.**, Sull' esistenza di un fermento diastaseo nei corpuscoli bianchi. (Gazz. d. osped. 1900. 29. Luglio.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.**Luft und Wasser.**

- Jordan, E. O.**, Some observations upon the bacterial self-purification of streams. (Journ. of experim. med. Vol. V. 1900. No. 3. p. 271—314.)
- L'Herminier**, Notes sur la stérilisation de l'eau alimentaire à l'école navale. (Arch. de méd. nav. 1900. No. 12. p. 401—427.)

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

- v. Esmarch, E.**, Verbreitung von Infektionserregern durch Gebrauchsgegenstände und ihre Desinfektion. (Hygien. Rundschau. 1901. No. 2. p. 49—57.)

Fleisch.

- Glage, F.**, Ueber die Bedeutung der Aromabakterien für die Fleischhygiene. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1901. Heft 5. p. 131—138.)
- Pautet, L.**, Précis de l'inspection des viandes. 2. éd. 18°. 447 p. avec 89 fig. Paris (Asselin et Houzeau) 1901.

Milch, Molkerei.

- Happich, C.**, Ueber die Ansäuerung des Rahmes mit Reinkulturen. (Balt. Wehschr. f. Landwirtsch. etc. 1901. No. 2. p. 11—14.)
- Kaltmilchanlage, eine, der Vereinigten Sterilisatorwerke Kleemann & Co., G. m. b. H., unter Benutzung von Frischverfahren. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1901. Heft 5. p. 138—142.)
- White, F. W.**, Observations on milk coagulation and digestion. (Journ. of the Boston soc. of med. scienc. Vol. V. 1900. No. 4. p. 125—136.)

Bier, Brauerei.

- de Geyter, G.**, La saccharification et la diffusion méthodique appliquée à la brasserie. (Pet. journ. du brasseur. 1900. p. 508—512.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

- Brick, C.**, Das amerikanische Obst und seine Parasiten. Ergänzungen. [Aus „Jahrb. d. hamb. wiss. Anstalten. 3. Beiheft.“] Lex.-8°. 19 p. In Komm. Hamburg (Lucas Gräfe & Sillem) 1901. 0,50 M.
- Kochs, J.**, Beiträge zur Einwirkung der Schilddläuse auf das Pflanzengewebe. [Aus „Jahrb. d. hamb. wiss. Anstalten. 3. Beiheft.“] Lex.-8°. 16 p. In Komm. Hamburg (Lucas Gräfe & Sillem) 1901. 0,50 M.

Inhalt.**Originalmitteilungen.**

- Holtz, Wilhelm**, Beitrag zur Kenntnis der Baumflüsse und einiger ihrer Bewohner. (Orig.) [Forts.], p. 179.
- Knecht, Wilhelm**, Auswahl von Kohlehydraten durch verschiedene Hefen bei der alkoholischen Gärung. (Orig.), p. 161.
- Smith, Erwin F.**, Entgegnung auf Alfred Fischer's „Antwort“ in betreff der Existenz von durch Bakterien verursachten Pflanzenkrankheiten. (Orig.) [Schluß], p. 190.
- Stutzer, A.**, Die Organismen der Nitrifikation. (Orig.), p. 168.

Referate.

- Hansen, Emil Chr.**, Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques. X. La variation des Saccharomyces, p. 199.
- Hiltner, L.**, Ueber die Ursachen, welche die Größe, Zahl, Stellung und Wirkung der Wurzelknöllchen der Leguminosen bedingen, p. 202.
- Trübzwetter**, Zur Frage der Kiefern-schütte, p. 205.
- Well**, Die Entstehung des Solanins in den Kartoffeln als Produkt bakterieller Einwirkung, p. 204.

Neue Litteratur, p. 206.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Prof. Dr. J. Behrens in Weinsberg i. W.,
Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Dr. v. Freudenreich in Bern, Privatdocent
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Dr. G. Harris Morris
in London, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädenswil, Dr. Erwin F. Smith in
Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr.,
Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel
und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VII. Band.

Jena, den 30. März 1901.

No. 7.

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

*Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die
Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung
der ersten Korrekturabsüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.*

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

**Der Einfluss der Temperatur und Ernährung auf die
Eigenbewegung der Bakterien.**

Von Dr. Teiji Matzushita aus Nippon (Japan).

Eine große Zahl von Bakterien besitzt Eigenbewegung, die durch besondere Organe, die Geißeln, vermittelt wird. Obgleich Ehrenberg, Cohn (1), Koch (2) u. a. Bewegungsorgane nachwiesen, wurde ein außerordentlicher Fortschritt erst durch Loeff-

ler (3) angebahnt, der eine allgemein gültige Methode angab, um die Geißeln durch eine Art von Beizung mit nachfolgender Färbung sichtbar zu machen.

Diese Eigenbewegung spielt eine große Rolle in der Unterscheidung der Bakterien. So ist dieselbe z. B. das einzige differentialdiagnostische Merkmal zwischen dem *Bacterium coli commune* einer- und dem *Bacterium coli immobile* Germano und Maurea (4) andererseits. Es giebt jedoch Autoren, welche behaupten, daß auch das *Bacterium coli commune* bisweilen keine Eigenbewegung besitze. In ähnlichen Verhältnissen stehen zu einander der eigenbewegliche *Bacillus subtilis* und der diesem sonst in allen Eigenschaften gleichende *Bacillus implexus*, dem die Eigenbewegung fehlt. Das Vorhandensein dieses Merkmales bei *Bacillus mycoides* erscheint ebenfalls zweifelhaft. Ferner wird dem *Bacillus granulosus* von H. L. Russell (5) keine Eigenbewegung zugeschrieben, während man bei demselben langsam schwingende Bewegungen bemerken kann, wenn man ihn im Brutschrank in Bouillon züchtet. Germano und Maurea (4) erwähnen, daß sich für Untersuchungen über die Eigenbewegung des *Bacillus coli communis* Nähragar, besonders eine 2-proz. Traubenzuckerbouillon eigne, in der man die Kultur 1—2 Tage lang einer Temperatur von 37° C aussetzt.

Ich habe in letzter Zeit mich mit Faecesbakterien beschäftigt und eine bezüglich der Eigenbewegung des *Bacillus coli communis* wichtige Thatsache beobachtet, nämlich diejenige, daß eine Temperatur von 37° C die Eigenbewegung des *Bacillus coli communis* etwas beeinträchtigt, und habe weiter mit beweglichen Bakterien Versuche angestellt. Die Resultate sind in folgenden Tabellen enthalten:

Fasse ich zum Schlusse die Resultate meiner Arbeit kurz zusammen, so lassen sie sich folgendermaßen formulieren:

1) Brüttemperatur ist für die Eigenbewegung der Bakterien nicht geeignet; wenn man eine Kultur von Bakterien bei Brüttemperatur stehen läßt, verlieren sie sofort oder nach einigen Tagen ihre Eigenbewegung, während sich dieselbe bei Zimmertemperatur viel längere Zeit nachweisen läßt.

2) Auf Kartoffeln verlieren die Bakterien sehr schnell ihre Eigenbewegung; dieselbe fehlt sogar bisweilen.

3) Auf Agarstrichkultur bewegen sich die Bakterien etwas längere Zeit als auf Kartoffeln.

4) In Bouillonkultur kann man überhaupt ziemlich lange die Eigenbewegung beobachten.

5) *Bacillus pyocyaneus* und *Vibrio cholerae asiatica* bewegen sich kräftiger und behalten ihre Eigenbewegung länger als die anderen der genannten Bakterienarten.

6) *Bacillus fluorescens liquefaciens* bewegt sich auf Kartoffeln bei 20° C nach 1 Tage nicht mehr, während *Bacillus pyocyaneus* 11 Tage lang beweglich bleibt.

A. In Bouillonkultur.

Namen der Bakterien	Temperatur	In Tagen																		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	13	14	15	18	21			
Bewegliche Sarcina	ca. 20° C	X	X	X	X	X			+	+	+	+	+	-	-	-	-			
	37° C	X	X	X	X	X			+	+	+	+	+	+	-	-	-			
Bacillus subtilis	ca. 20° C	X	X	X	X	X			+	+	+	+	+	+	-	-	-			
	37° C	X		+	X	X			+	+	+	+	+	+	-	-	-			
Bacillus mesentericus ruber Globig	ca. 20° C	X	X	X	X	X									+	-	-			
	37° C	X		+	+	+									+	-	-			
Bacillus mesentericus vulgatus	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X							-	-	-			
	37° C	X	X	X	X	X	X	X							-	-	-			
Bacillus mesentericus fuscus	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		+	-			
	37° C	X	X	X	X	X	X	X								+	-			
Bacillus megaterium similans Verf.	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X							+	-	-			
	37° C	X	X	X	X	X	X	X							+	-	-			
Bacillus terrestris Verf.	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X			-			
	37° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X			-			
Bacillus pituitosus Verf.	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		-	-			
	37° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		-	-			
Bacillus mycoides ruber b Verf.	ca. 20° C	X	X		+	+	+				+	+	+	+	+	+	+			
	37° C	X	+	+	+	+					+	+	+	+	+	+	+			
Bacillus pseudobutyricus Verf.	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X			
	37° C	+	+	?	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X			
Bacillus proteus vulgaris. Kultur I	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		-	-			
	37° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		-	-			
Bacillus proteus vulgaris. Kult. II	ca. 20° C	X	X	X	X	X										-	-			
	37° C	X	X	X	X	X										-	-			
Bacillus pyocyaneus	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		+	-			
	37° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		+	-			
Bacillus fluorescens liquefaciens	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		+	-			
	37° C	X			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		+	-			
Bacillus fluorescens non liquefaciens	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		+	-			
	37° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		+	-			
Bacillus cyanogenes	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X			-			
	37° C ¹⁾	+	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X			-			
Bacillus prodigiosus	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X							-			
	37° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X							-			
Der theebraunfarb. Bacillus Verf.	ca. 20° C	X	X	X	X										+	+	-			
	37° C	X	X	X	X										+	+	-			
Bacillus proteus Zopfii	ca. 20° C	X	X													+	+			
	37° C	X	X													+	+			
Bacillus acidi lactis ²⁾	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X			+			
	37° C	X	X	X	+	X	X	X	X	X	X	X	X	X			+			
Bacillus coli communis. Kultur I	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X		+	-	-	-	-	-	-			
	37° C	X			+	X	X	X	X	X	X	X	X	X	-	-	-			

Erklärung der Zeichen:

- X Lebhaftes Eigenbewegung.
- || Weniger lebhaftes Eigenbewegung.
- + Schwache Eigenbewegung.
- Fehlen der Eigenbewegung.
- ? Zweifelhafte Eigenbewegung.

1) Bacillus cyanogenus entwickelt sich bei 37° C nicht mehr, weswegen ich ihn zuerst einen Tag lang bei 20° C liegen ließ, worauf er sich sehr stark entwickelte und sehr lebhaftes Eigenbewegung zeigte; dann wurde er in den Brutschrank gebracht.
 2) Bacillus acidi lactis hat nach seinem Entdecker keine Eigenbewegung, während ein Bacillus, welcher unter demselben Namen im hygienischen Institut in Gießen aufgehoben wird, sehr lebhaftes Eigenbewegung zeigt.

Namen der Bakterien	Temperatur	In Tagen																	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	13	14	15	18	21		
Bacillus coli communis. Kultur II	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
	37° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
Milch nicht koagulierender Colon-bacillus Verf.	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
	37° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
Bacillus typhosus. Kultur I	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
	37° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
Bacillus typhosus. Kultur II	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
	37° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
Bacillus typhosus. Kultur III	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
	37° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
Bacillus typhosus. Kultur IV	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
	37° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
Vibrio cholerae	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
	37° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
Vibrio Metschnikovii	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
	37° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		

B. Auf Agarstrichkultur¹⁾.

Namen der Bakterien	Temperatur	In Tagen																	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	17	20	
Bewegliche Sarcina	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
	37° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Bacillus subtilis	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
	37° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Bacillus mesentericus ruber	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
	37° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Bacillus mesentericus vulgatus	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
	37° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Bacillus mesentericus fuscus	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
	37° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Bacillus megaterium simlans	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
	37° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Bacillus terrestris	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
	37° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Bacillus pituitosus	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
	37° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Bacillus mycoides ruber b	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
	37° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Bacillus pseudobutyricus	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
	37° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Bacillus proteus vulgaris. Kultur I	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
	37° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Bacillus proteus vulgaris. Kult. II	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
	37° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Bacillus pyocyaneus	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
	37° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Bacillus fluorescens liquefaciens	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
	37° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	

1) Es wurde immer der Belag der Agarstrichkultur benutzt (nicht das Kondensationswasser).

Namen der Bakterien	Temperatur	In Tagen																			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	17	20			
Bacillus fluorescens non liquefaciens	ca. 20° C	X	X	X	X	X					+	+	+	+	-	-	-	-			
	37° C																				
Bacillus cyanogenes	ca. 20° C	X	X	X	X																
	37° C)	X	X	X	X																
Bacillus prodigiosus	ca. 20° C	X	X		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	37° C	X	X		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
Der theebraunfarbige Bacillus	ca. 20° C	X	X	X	X				+	+	+	-	-	-	-	-	-	-			
	37° C	X	X	X	X				+	+	+	-	-	-	-	-	-	-			
Bacillus proteus Zopfii	ca. 20° C	X	X	X	X	X															
	37° C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
Bacillus acidi lactis	ca. 20° C	X	X			+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	37° C																				
Bacillus coli communis. Kultur I	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X						
	37° C																				
Bacillus coli communis. Kultur II	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		+	+	-	-			
	37° C			+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
Milch nicht koagulierender Colonicillus	ca. 20° C	X	X		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	37° C																				
Bacillus typhosus. Kultur I	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X			+	+			
	37° C			+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
Bacillus typhosus. Kultur II	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		+	+	+	+	+			
	37° C			+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
Bacillus typhosus. Kultur III	ca. 20° C	X	X	+	+	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X						
	37° C																				
Bacillus typhosus. Kultur IV	ca. 20° C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X						
	37° C																				
Vibrio cholerae asiaticae	ca. 20° C	X	X					+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	37° C																				
Vibrio Metschnikovii	ca. 20° C	X	X			+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	37° C																				

C. Auf Kartoffeln.

Namen der Bakterien	Temperatur	In Tagen																			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	17	20			
Bewegliche Sarcina	ca. 20° C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	37° C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
Bacillus subtilis	ca. 20° C		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	37° C	?	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
Bacillus mesentericus ruber	ca. 20° C	X	X	X	X	X				+	+	-	-	-	-	-	-	-			
	37° C																				
Bacillus mesentericus vulgatus	ca. 20° C	X		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	37° C																				
Bacillus mesentericus fuscus	ca. 20° C	X	X				+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	37° C																				
Bacillus megaterium simlans	ca. 20° C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	37° C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
Bacillus terrestris	ca. 20° C	X				+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	37° C																				
Bacillus pituitosus	ca. 20° C	X		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	37° C																				
Bacillus mycoides ruber b	ca. 20° C	X	X	X	X	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	37° C																				

1) Bacillus cyanogenes siehe oben.

Namen der Bakterien	Temperatur	In Tagen																
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	17	20
Bacillus pseudobutyricus	ca. 20° C	×	×	×	×	×	×	×	×		+	+						
	37° C	×	×	×	×	×	×	×	×		+	+						
Bacillus proteus vulgaris. Kultur I	ca. 20° C	×		+	?													
	37° C																	
Bacillus proteus vulgaris. Kult. II	ca. 20° C		+															
	37° C	?																
Bacillus pyocyaneus	ca. 20° C	×	×	×	×	×	×	×	×		+							
	37° C	+																
Bacillus fluorescens liquefaciens	ca. 20° C	?																
	37° C																	
Bacillus fluorescens non liquefaciens	ca. 20° C	×	×	×	×	×	×	×	×			+	+					
	37° C	+																
Bacillus cyanogenes	ca. 20° C	×	×	×	×	×	×	×										
	37° C ²⁾																	
Bacillus prodigiosus	ca. 20° C	×		+														
	37° C																	
Der theebraunfarbige Bacillus	ca. 20° C																	
	37° C																	
Bacillus proteus Zopfii	ca. 20° C																	
	37° C																	
Bacillus acidi lactis	ca. 20° C																	
	37° C																	
Bacillus coli communis. Kultur I	ca. 20° C		+	+	+	+	+											
	37° C																	
Bacillus coli communis. Kultur II	ca. 20° C			+	+	+	+	+	+	+	+							
	37° C	+																
Milch nicht koagulirender Colonbacillus	ca. 20° C																	
	37° C																	
Bacillus typhosus. Kultur I	ca. 20° C	+	+															
	37° C																	
Bacillus typhosus. Kultur II	ca. 20° C																	
	37° C																	
Bacillus typhosus. Kultur III	ca. 20° C	+																
	37° C	+																
Vibrio cholerae asiaticae	ca. 20° C	+																
	37° C	+																
Vibrio Metschnikovii	ca. 20° C	?																
	37° C	?																

7) Wenn man die Eigenbewegung der Bakterien untersuchen will, muß man 1—3 Tage alte, bei Zimmertemperatur gewachsene Bouillonkulturen benutzen.

Litteratur.

- 1) Cohn, Beiträge zur Biologie der Pflanzen von F. Cohn. Bd. I. p. 183.
- 2) Koch, Beiträge zur Biologie der Pflanzen von F. Cohn. Bd. II.
- 3) Loeffler, Centralblatt für Bakteriologie. Bd. VII. No. 20.
- 4) Germano und Maurea, Beiträge zur pathologischen Anatomie und zur allgemeinen Pathologie. Bd. XII.
- 5) Russell, Zeitschrift f. Hygiene und Infektionskrankheiten. Bd. XI.

1) Bacillus cyanogenes siehe oben.

Nachdruck verboten.

Auswahl von Kohlehydraten durch verschiedene Hefen bei der alkoholischen Gärung.

[Mitteilungen aus der vom kgl. bayer. Staate subvent. Versuchstation für Bierbrauerei zu Nürnberg.]

Von Dr. **Wilhelm Knecht.**

(Schluß.)

Ausführung der Analyse der vergorenen Flüssigkeiten.

Bei allen Untersuchungen wurde der Inhalt des Gärkolbens mit dem des U-Röhrchens in einem 300 ccm-Kolben vereinigt und mit destilliertem Wasser bis zur Marke genau aufgefüllt.

Es wurde bestimmt:

- 1) der unvergorene Rohrzucker,
- 2) die unvergorene Dextrose und Lävulose,
- 3) der Alkohol,
- 4) die Anzahl der vorhandenen, bezw. neugebildeten Hefezellen.

Die Bestimmung der reduzierenden Zucker erfolgte als Invertzucker nach der Kjeldahl'schen Methode¹⁾. Da im Anfangsstadium der Gärung immer noch etwas Saccharose vorhanden war, mußte dieselbe durch Inversion nach Clerget in Invertzucker übergeführt und als solcher bestimmt werden,

Die vorhandene Dextrose und Lävulose wurde aus der beobachteten Drehung der Polarisationsebene im Halbschattenapparat von Schmidt und Häntsch unter Zuhilfenahme der durch die Analyse gefundenen Zahlen berechnet.

Die Bestimmung des Alkohols geschah in bekannter Weise durch Destillation und Ermittlung des absoluten und spez. Gewichts des erhaltenen Destillates. Die Hefezählung zur Bestimmung der Gesamtvermehrung und Vermehrung aus einer Zelle wurde mittels des oben erwähnten sogen. Hämatimeters ausgeführt; es wurden, um sichere Resultate zu erhalten, je 30 Quadrate in 5 Präparaten untersucht und dann die Mittelzahlen berechnet.

Die eben allgemein beschriebenen Versuche sind in nachfolgenden Tabellen zusammengestellt.

Zur Erläuterung sei noch bemerkt, daß mit Gärungsenergie die Anzahl der innerhalb 4 Tagen von einer Million Hefezellen vergorenen Milligramme Zucker, mit Gärvermögen, die am Ende des Versuchs von einer Million Hefezellen vergorenen Zuckermengen in Milligrammen, mit Vermehrungsenergie die innerhalb 4 Tagen aus einer Zelle entstandenen Hefezellen und mit Gärvermögen die Anzahl der neugebildeten Zellen am Ende des Gärversuches bezeichnet werden, wodurch die Größe der Arbeitsleistung der Hefe, welche einestheils in der Neubildung von Zellen, andernteils in der Zuckerspaltung besteht, in Zahlen ausgedrückt wird.

1) Prior, Chemie und Physiologie des Malzes und Bieres. p. 224.

A-Hefe — Hefewasser

Angewandte Menge	Saccharose 6 %					Saccharose 6 %, Dextrose 3 %					
	3,10					5,87					
Gesamtdextrose	3,10					3,08					
Gesamtlävulose											
Nach Tagen	2	4	6	8	10	2	4	6	8	10	28
Saccharose	5,89	5,89	5,89	5,89	5,89	5,86	5,86	5,86	5,86	5,86	5,86
Dextrose	—	—	—	—	—	2,79	2,79	2,79	2,79	2,79	2,79
Invertzucker vorhanden	2,65	4,48	3,00	1,93	1,57	5,02	6,45	5,20	3,81	3,42	1,00
Rohrzucker vorhanden	2,83	—	—	—	—	3,01	—	—	—	—	—
Rohrzucker invertiert	3,06	5,89	5,89	5,89	5,89	2,85	5,86	5,86	5,86	5,86	5,86
in %	51,96	100	100	100	100	48,64	100	100	100	100	100
Beobachtete Drehung in °	+ 2,2	- 2,6	- 2,6	- 2,2	- 1,8	+ 4,8	- 0,2	- 1,30	- 1,52	- 1,50	- 0, —
Drehung d. vorh. Rohrzuck. in °	+ 3,76	—	—	—	—	+ 4	—	—	—	—	—
in % Invertzuck. in °	- 1,5	- 2,6	- 2,6	- 2,2	- 1,8	+ 0,8	- 0,2	- 1,30	- 1,52	- 1,50	- 0, —
Dextrose vorhanden	1,21	2,02	1,06	0,51	0,41	3,51	4,09	2,91	1,95	1,70	0,55
Lävulose	1,44	2,46	1,94	1,42	1,16	1,51	2,36	2,29	1,86	1,72	0,45
Dextrose vergoren	0,34	1,08	2,03	2,59	2,69	0,78	1,78	2,96	3,92	4,17	5,32
Lävulose	0,11	0,64	1,13	1,68	1,94	—	0,72	0,79	1,22	1,36	2,63
Alkohol	0,2	0,82	1,50	2,02	2,22	0,32	1,28	1,78	2,38	2,66	3,96
Hefeausaat	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23
Gesamtvermehrung	16100	27600	29900	35140	36800	18400	28750	32465	41354	43700	4715
Vermehrung einer Zelle	700	1200	1300	1580	1600	800	1250	1455	1798	1900	205
1 Million Hefezellen vergoren											
Dextrose in mg	0,21	0,39	0,68	0,73	0,74	0,42	0,64	0,91	0,94	0,95	1,12
Lävulose in mg	0,07	0,23	0,37	0,47	0,51	—	0,25	0,25	0,29	0,31	0,55
1 Million Hefezellen standen noch zur Verfügung											
Dextrose in mg	0,75	0,73	0,35	0,14	0,11	1,90	1,40	0,89	0,47	0,38	0,11
Lävulose in mg	0,89	0,88	0,64	0,40	0,31	0,83	0,82	0,70	0,44	0,39	0,09

A-Hefe — Asparagin

Angewandte Menge	Saccharose 6 %					Saccharose 6 %, Dextrose 3 %					
	3,10					5,75					
Gesamtdextrose	3,10					2,91					
Gesamtlävulose											
Nach Tagen	2	4	6	8	10	2	4	6	8	10	28
Saccharose	5,89	5,89	5,89	5,89	5,89	5,53	4,53	5,53	5,53	5,53	5,53
Dextrose	—	—	—	—	—	2,84	2,84	2,84	2,84	2,84	2,84
Invertzucker vorhanden	—	5,60	5,50	5,46	5,40	3,00	7,80	7,60	7,32	7,24	6,20
Rohrzucker	5,89	—	—	—	—	5,11	—	—	—	—	—
Rohrzucker invertiert	—	5,89	5,89	5,89	5,89	0,42	5,53	5,53	5,53	5,53	5,53
in %	—	100	100	100	100	0,75	100	100	100	100	100
Beobachtete Drehung in °	+ 7,8	- 2,9	- 2,8	- 2,8	- 2,75	+ 9,63	+ 0,84	+ 0,5	+ 0,3	+ 0,3	- 0, —
Drehung d. vorh. Rohrzuck. in °	+ 7,8	—	—	—	—	+ 6,79	—	—	—	—	—
in % Invertzuck. in °	—	- 2,9	- 2,8	- 2,8	- 2,75	+ 2,84	+ 0,84	+ 0,5	+ 0,3	+ 0,3	- 0, —
Dextrose vorhanden	3,10	2,73	2,60	2,58	2,55	2,89	5,17	5,06	4,81	4,74	4,00
Lävulose	3,10	2,97	2,90	5,88	2,85	0,11	2,63	2,54	2,52	2,50	2,20
Dextrose vergoren	—	0,37	0,50	0,52	0,55	0,17	0,59	0,69	0,94	1,01	1,70
Lävulose	—	0,14	0,20	0,22	0,25	0,11	0,28	0,37	0,39	0,41	0,71
Alkohol	—	0,28	0,35	0,37	0,40	0,13	0,43	0,57	0,65	0,70	1,20
Hefeausaat	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23
Gesamtvermehrung	4600	9660	10350	10810	10810	4830	10350	11776	12420	13340	1800
Vermehrung einer Zelle	200	420	450	470	470	210	450	512	540	580	800
1 Million Hefezellen vergoren											
Dextrose in mg	—	0,38	0,48	0,49	0,50	0,35	0,57	0,58	0,75	0,76	0,90
Lävulose in mg	—	0,17	0,19	0,20	0,23	0,23	0,27	0,30	0,31	0,33	0,50
1 Million Hefezellen noch zur Verfügung											
Dextrose in mg	6,73	2,82	2,51	2,38	2,34	5,98	4,98	4,29	3,87	3,54	2,10
Lävulose in mg	6,73	3,07	2,80	2,66	2,64	5,79	2,54	2,15	2,02	1,87	1,10

accharose + Dextrose.

accharose 4,5 %, Dextrose 4,5 %						Saccharose 2 %, Dextrose 6 %						Saccharose 2 %, Dextrose 8 %					
6,40						6,35						8,21					
2,28						1,036						1,005					
2	4	6	8	10	28	2	4	6	8	10	28	2	4	6	8	10	28
4,35	4,35	4,35	4,35	4,35	4,35	1,97	1,97	1,97	1,97	1,97	1,97	1,91	1,91	1,91	1,91	1,91	1,91
1,12	4,12	4,12	4,12	4,12	4,12	5,32	5,32	5,32	5,32	5,32	5,32	7,21	7,21	7,21	7,21	7,21	7,21
5,58	6,72	5,34	4,29	3,42	0,98	6,16	5,08	3,77	2,36	1,67	0,42	7,31	6,87	5,25	4,32	3,18	0,90
1,00	—	—	—	—	—	0,6	—	—	—	—	—	1,51	—	—	—	—	—
1,35	4,35	4,35	4,35	4,35	4,35	1,37	1,97	1,97	1,97	1,97	1,97	0,40	1,91	1,91	1,91	1,91	1,91
4,75	100	100	100	100	100	69,54	100	100	100	100	100	20,94	100	100	100	100	100
+ 3,6	+1,50	± 0	± 0	- 0,4	-0,25	+ 5,6	+ 3,0	+ 1,9	+ 1	+ 0,4	+ 0,2	+ 9,2	+ 5,1	+ 3,6	+2,90	+ 2	+ 0,5
1,33	—	—	—	—	—	+0,79	—	—	—	—	—	+ 2	—	—	—	—	—
2,27	+1,50	± 0	± 0	- 0,4	-0,25	+ 4,8	+ 3,0	+ 1,9	+ 1	+ 0,4	+ 0,2	+ 7,2	+ 5,1	+ 3,6	+2,90	+ 2	+ 0,5
500	483	3,44	2,76	2,07	0,54	5,36	4,27	3,06	1,88	1,21	0,33	7,13	6,24	4,60	3,76	2,72	0,74
1,59	1,89	1,90	1,50	1,35	0,44	0,60	0,82	0,71	0,51	0,46	0,09	0,18	0,65	0,63	0,56	0,46	0,16
0,88	1,46	2,97	3,64	4,33	5,86	0,48	2,13	3,34	4,55	5,20	6,02	0,27	2,07	3,62	4,45	5,49	7,47
0,17	0,28	0,39	0,73	0,93	1,84	0,12	0,26	0,37	0,47	0,61	0,94	0,03	0,37	0,37	0,44	0,54	0,84
0,35	0,92	1,55	2,14	2,52	3,83	0,29	1,13	1,78	2,30	2,66	3,48	0,15	1,12	1,86	2,30	2,88	4,14
23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23
1240	2582	31740	35420	39100	43470	17250	25300	31050	36800	41860	43700	18400	24150	29900	30040	39100	42780
880	1124	1380	1540	1700	1890	750	1100	1350	1600	1820	1900	800	1050	1300	1480	1700	1860
0,32	0,56	0,93	1,02	1,10	1,34	0,27	0,83	1,07	1,23	1,24	1,35	0,14	0,85	1,21	1,30	1,40	1,74
0,08	0,11	0,12	0,20	0,23	0,42	0,07	0,10	0,11	0,12	0,14	0,21	0,01	0,15	0,13	0,13	0,14	0,19
2,47	1,86	1,08	0,78	0,53	0,12	3,22	1,68	0,98	0,51	0,28	0,07	3,82	2,58	1,55	1,10	0,69	0,17
0,78	0,73	0,59	0,42	0,34	0,10	0,35	0,32	0,22	0,13	0,10	0,02	0,44	0,26	0,21	0,16	0,11	0,03

II.
Saccharose + Dextrose.

accharose 4,5 %, Dextrose 4,5 %						Saccharose 2 %, Dextrose 6 %						Saccharose 2 %, Dextrose 8 %					
6,06						6,25						8,19					
2,10						1,04						1,03					
2	4	6	8	10	28	2	4	6	8	10	28	2	4	6	8	10	28
4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	1,97	1,97	1,97	1,97	1,97	1,97	1,96	1,96	1,96	1,96	1,96	1,96
3,96	3,96	3,96	3,96	3,96	3,96	5,22	5,22	5,22	5,22	5,22	5,22	7,16	7,16	7,16	7,16	7,16	7,16
4,13	7,80	7,20	6,90	6,70	4,80	5,38	6,70	6,41	6,25	5,90	3,80	7,36	8,75	8,40	8,10	7,60	3,70
3,56	—	—	—	—	—	1,57	—	—	—	—	—	1,46	—	—	—	—	—
0,44	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	0,40	1,97	1,97	1,97	1,97	1,97	0,50	1,96	1,96	1,96	1,96	1,96
10	100	100	100	100	100	20,30	100	100	100	100	100	25,58	100	100	100	100	100
+ 8,6	+ 2,1	+ 1,9	+ 1,9	+ 1,7	+0,53	+ 7,1	+ 4,6	+ 4,4	+ 4,3	+ 4,2	+2,63	+9,13	+6,82	+ 6,4	+ 6,4	+ 6,1	+2,75
-4,17	—	—	—	—	—	+2,08	—	—	—	—	—	+1,83	—	—	—	—	—
-3,90	+ 2,1	+ 1,9	+ 1,9	+ 1,7	+0,53	+ 5,1	+ 4,6	+ 4,4	+ 4,3	+ 4,2	+2,63	+ 7,3	+6,82	+ 6,4	+ 6,4	+ 6,1	+2,75
1,99	5,80	5,25	5,04	4,95	3,25	5,18	5,85	5,58	5,49	5,18	3,33	7,20	7,86	7,60	7,36	6,94	3,30
0,14	2,00	1,95	1,86	1,75	1,55	0,20	0,85	0,83	0,76	0,72	0,47	0,16	0,89	0,79	0,74	0,66	0,43
0,21	0,46	0,81	1,02	1,11	2,81	0,24	0,40	0,67	0,76	1,07	2,92	0,22	0,30	0,59	0,83	1,25	4,89
0,09	0,10	0,15	0,24	0,35	0,55	0,01	0,18	0,21	0,28	0,32	0,57	0,10	0,17	0,24	0,29	0,37	0,60
Spur	0,28	0,48	0,63	0,73	1,68	Spur	0,28	0,43	0,51	0,69	1,74	0,15	0,28	0,41	0,56	0,81	2,71
23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23
7130	10350	11270	12075	12190	18124	6670	11040	11780	12650	13110	18400	5520	7360	11307	11658	12420	18653
310	480	490	525	530	788	290	480	510	550	570	800	240	320	409	506	5,40	811
0,28	0,44	0,73	0,84	0,91	1,54	0,35	0,36	0,57	0,60	0,81	1,58	0,39	0,40	0,52	0,71	1,00	2,56
0,10	0,11	0,12	0,19	0,28	0,30	0,01	0,16	0,17	0,21	0,24	0,30	0,18	0,22	0,23	0,25	0,29	0,32
5,45	5,40	4,64	4,16	4,05	1,78	7,31	5,29	4,74	4,34	3,18	1,80	13,04	10,67	0,72	6,33	5,60	1,76
1,96	1,93	1,73	1,51	1,42	0,85	1,25	0,76	0,71	0,60	0,54	0,25	1,56	1,20	0,69	0,63	0,53	0,23

Tab.
A-Hefe.

Angewandte Menge	Hefewasser					
	Sacchar. 6 ‰, Lävul. 3 ‰			Sacch. 4,5 ‰, Lävul. 4,5 ‰		
Gesamtlävulose	5,80			6,17		
Gesamtdextrose	2,76			1,86		
Nach Tagen	4	10	28	4	10	28
Saccharose	5,26	5,26	5,26	3,55	3,55	3,55
Lävulose	3,04	3,04	3,04	4,30	4,30	4,30
Invertzucker vorhanden	6,80	5,72	3,75	7,40	5,89	3,77
Bohrzucker	1,2	—	—	0,30	—	—
„ inverteert	4,06	5,26	5,26	3,25	3,55	3,55
„ „ in ‰	77,24	100	100	91,54	100	100
Beobachtete Drehung in °	- 5,77	- 6,4	- 5,0	- 8,76	- 7,6	- 6,0
Drehung d. vorh. Rohrzuck. in °	+ 1,59	—	—	+ 0,39	—	—
„ „ Invertzuck. in °	- 7,36	- 6,4	- 5,0	- 9,15	- 7,6	- 6,0
Lävulose vorhanden	4,87	4,18	3,02	5,71	4,64	3,35
Dextrose	1,93	1,54	0,74	1,69	1,25	0,42
Lävulose vergoren	0,25	1,62	2,78	0,30	1,53	2,82
Dextrose	0,15	1,22	2,02	0,02	0,64	1,44
Alkohol	0,22	1,42	2,40	0,16	1,06	2,13
Hefeausaat	23	23	23	23	23	23
Gesamtvermehrung	24150	41676	43838	22954	41216	43539
Vermehrung einer Zelle	1050	1812	1906	998	1792	1893
1 Million Hefezellen vergoren						
Dextrose in mg	0,06	0,29	0,46	0,01	0,15	0,33
Lävulose in mg	0,10	0,38	0,63	0,13	0,37	0,64
1 Million Hefezellen noch zur Verfügung						
Dextrose in mg	0,79	0,37	0,17	0,73	0,30	0,09
Lävulose in mg	2,01	1,02	0,69	2,48	1,12	0,81

Tab.
L-Hefe — Hefenwasser

Angewandte Menge	Saccharose 6 ‰					Saccharose 6 ‰, Dextrose 3 ‰					
	3,10					5,75					
Gesamtdextrose	3,10					2,91					
Gesamtlävulose	3,10					2,91					
Nach Tagen	2	4	6	8	10	2	4	6	8	10	28
Saccharose	5,89	5,89	5,89	5,89	5,89	5,53	5,53	5,53	5,53	5,53	5,53
Dextrose	—	—	—	—	—	2,84	2,84	2,84	2,84	2,84	2,84
Invertzucker vorhanden	4,50	2,40	1,02	—	—	4,80	5,32	3,65	2,21	1,27	—
Bohrzucker	—	—	—	—	—	2,80	—	—	—	—	—
Bohrzucker invertiert	5,89	5,89	5,89	5,89	5,89	2,73	5,53	5,53	5,53	5,53	5,53
„ „ in ‰	100	100	100	—	—	49,18	100	100	100	100	100
Beobachtete Drehung in °	- 2,7	- 2,2	- 1,2	±	±	+ 4,8	+ 1	- 1,26	- 1,73	- 1,2	±
Drehung d. vorh. Rohrzuck. in °	—	—	—	—	—	+ 3,72	—	—	—	—	±
„ „ Invertzuck. in °	- 2,7	- 2,2	- 1,2	±	±	+ 1,08	+ 1	- 1,26	- 1,73	- 1,2	±
Dextrose vorhanden	2,00	0,79	0,25	—	—	3,45	3,09	1,93	0,84	0,40	—
Lävulose	2,50	1,61	0,77	—	—	1,35	2,23	1,72	1,37	0,87	—
Dextrose vergoren	1,10	2,31	2,85	3,10	3,10	0,82	2,66	3,82	4,91	5,35	5,75
Lävulose	0,60	1,49	2,33	3,10	3,10	0,08	0,64	1,19	1,54	2,04	2,91
Alkohol	0,83	1,84	2,44	2,9	2,9	0,45	1,64	2,38	3,05	3,62	4,33
Hefeausaat	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23
Gesamtvermehrung	18400	26450	31740	34040	34500	18400	31050	34500	39100	41400	4370
Vermehrung einer Zelle	800	1150	1380	1480	1500	800	1350	1500	1700	1800	190
1 Million Hefezellen vergoren											
Dextrose in mg	0,59	0,87	0,89	0,91	0,91	0,44	0,85	1,10	1,25	1,29	1,31
Lävulose in mg	0,32	0,56	0,73	0,91	0,91	0,04	0,20	0,34	0,39	0,49	0,61
1 Million Hefezellen noch zur Verfügung											
Dextrose in mg	1,08	0,29	0,07	—	—	1,87	0,99	0,56	0,21	0,09	—
Lävulose in mg	1,35	0,60	0,24	—	—	0,73	0,71	0,49	0,35	0,21	—

III.

Saccharose + Lävulose.

Sacch. 2 ‰, Läv. 8 ‰			Asparagin								
			Sacch. 6 ‰, Läv. 3 ‰			Sacch. 4,5 ‰, Läv. 4,5 ‰			Sacch. 2 ‰, Läv. 8 ‰		
8,22			5,77			6,18			7,87		
0,82			2,74			2,06			0,98		
4	10	28	4	10	28	4	10	28	4	10	28
1,66	1,66	1,66	5,22	5,22	5,22	3,93	3,93	3,93	1,87	1,87	1,87
7,40	7,40	7,40	3,03	3,03	3,03	4,12	4,12	4,12	6,89	6,89	6,89
8,35	6,29	4,02	3,70	4,22	7,27	4,50	6,65	7,29	7,60	7,75	7,45
0,26	—	—	4,50	3,51	—	3,46	1,00	—	0,95	0,22	—
1,40	1,66	1,66	0,67	1,71	5,22	0,47	2,93	3,93	0,92	1,65	1,87
84,33	100	100	12,83	32,75	100	19,59	74,53	100	43,60	88,24	100
-13,6	-10,6	-7,6	-0,13	-1,45	-7,4	-3,25	-7,6	-8,4	-11,94	-12,2	-11,68
+0,33	—	—	+5,88	+4,66	—	+4,59	+1,33	—	+1,25	+0,28	—
-13,9	-10,6	-7,6	-6,01	-6,11	-7,4	-7,84	-8,39	-8,4	-13,19	-12,50	-11,68
7,64	5,80	3,97	3,34	3,55	5,06	4,30	5,18	5,41	7,14	6,96	6,57
0,71	0,49	0,05	0,36	0,67	2,21	0,20	1,47	1,88	0,46	0,79	0,88
0,49	2,42	4,24	0,06	0,38	0,71	0,06	0,41	0,77	0,23	0,79	1,30
0,02	0,33	0,77	0,02	0,23	0,53	0,01	0,07	0,18	0,01	0,06	0,10
0,26	1,37	2,51	Spur	0,30	0,62	Spur	0,27	0,47	Spur	0,39	0,70
23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23
24633	41446	43930	9960	11500	17250	9545	11960	15640	8970	13800	15400
1071	1802	1910	420	500	750	415	520	680	390	600	675
0,01	0,09	0,17	0,02	0,26	0,30	0,01	0,06	0,11	0,01	0,04	0,06
0,16	0,58	0,96	0,06	0,33	0,41	0,06	0,34	0,42	0,25	0,57	0,84
0,28	0,12	0,01	2,46	1,80	1,28	1,95	1,23	1,20	0,58	0,56	0,53
3,10	1,39	0,90	3,45	3,09	2,87	4,49	4,33	3,46	7,87	5,04	4,26

IV.

Saccharose + Dextrose.

Saccharose 4,5 ‰, Dextrose 4,5 ‰							Saccharose 2 ‰, Dextrose 6 ‰						Saccharose 2 ‰, Dextrose 8 ‰					
6,06							6,25						8,19					
2,10							1,04						1,03					
2	4	6	8	10	28	2	4	6	8	10	28	2	4	6	8	10	28	
4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	1,97	1,97	1,97	1,97	1,97	1,97	1,96	1,96	1,96	1,96	1,96	1,96	
3,96	3,96	3,96	3,96	3,96	3,96	5,22	5,22	5,22	5,22	5,22	5,22	7,16	7,16	7,16	7,16	7,16	7,16	
7,17	4,99	3,48	2,61	1,04	—	6,23	4,52	3,56	2,50	0,90	—	7,95	7,68	6,99	5,68	2,90	0,55	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	1,97	1,97	1,97	1,97	1,97	1,97	1,96	1,96	1,96	1,96	1,96	1,96	
100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	
+2	+0,2	-0,2	-0,6	-0,5	±	+4,0	+2,6	+1,92	+1,0	+0,4	±	+5,9	+5,8	+5,14	+4,2	+2,2	+0,4	
+2	+0,2	-0,2	-0,6	-0,5	±	+4,0	+2,6	+1,92	+1,0	+0,4	±	+5,9	+5,8	+5,14	+4,2	+2,2	+0,4	
5,30	3,24	2,18	1,48	0,53	—	5,34	3,77	2,93	1,94	0,71	—	7,13	6,88	6,21	4,97	2,60	0,41	
1,87	1,75	1,30	1,13	0,51	—	0,89	0,75	0,63	0,56	0,24	—	0,82	0,80	0,78	0,71	0,30	0,14	
0,76	2,82	4,01	4,58	5,52	6,06	0,89	2,48	3,32	4,31	5,54	6,25	1,06	1,36	1,98	3,22	5,59	7,78	
0,23	0,35	0,80	0,97	1,49	2,10	0,14	0,28	0,40	0,49	0,84	1,03	0,21	0,23	0,25	0,32	0,73	0,89	
0,49	1,54	2,40	2,78	3,57	3,98	0,51	1,37	1,85	2,38	3,19	3,59	0,63	0,77	1,11	1,76	3,16	4,33	
23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	
30240	30360	34040	36800	39100	41975	18400	27738	32200	35340	37950	42090	19450	25070	27738	31050	37490	41444	
880	1320	1480	1600	1700	1825	800	1206	1400	1580	1650	1830	850	1090	1206	1350	1630	1802	
0,37	0,92	1,17	1,24	1,41	1,44	0,47	0,89	1,03	1,21	1,46	1,48	0,54	0,55	0,71	1,03	1,49	1,87	
0,11	0,12	0,23	0,24	0,38	0,50	0,07	0,10	0,12	0,13	0,22	0,24	0,10	0,10	0,10	0,11	0,16	0,18	
2,61	1,06	0,64	0,40	0,13	—	2,90	1,35	0,90	0,54	0,19	—	3,61	2,73	2,23	1,60	0,69	0,09	
0,92	0,57	0,38	0,30	0,12	—	0,47	0,27	0,16	0,15	0,06	—	0,43	0,31	0,24	0,22	0,09	0,03	

Angewandte Menge	Saccharose 6 %					Saccharose 6 %, Dextrose 3 %					
	3,10					5,75					
Gesamtdextrose	3,10					2,91					
Gesamtlävulose											
Nach Tagen	2	4	6	8	10	2	4	6	8	10	28
Saccharose	5,89	5,89	5,89	5,89	5,89	5,53	5,53	5,53	5,53	5,53	5,53
Dextrose	—	—	—	—	—	2,84	2,84	2,84	2,84	2,84	2,84
Invertzucker vorhanden	—	5,78	5,45	5,39	5,34	4,40	7,34	7,09	6,43	6,40	4,00
Rohrzucker	5,89	—	—	—	—	3,80	—	—	—	—	—
Rohrzucker invertiert	—	5,89	5,89	5,89	5,89	1,73	5,53	5,53	5,53	5,53	5,53
„ „ in %	—	100	100	100	100	31,28	100	100	100	100	100
Beobachtete Drehung in °	+ 7,8	- 2,6	- 2,4	- 2,4	- 2,19	+ 7,10	±	- 0,32	- 0,90	- 0,90	- 1,5
Drehung d. vorh. Rohrzuck. in °	+ 7,8	—	—	—	—	+ 5,05	—	—	—	—	—
„ „ Invertzuck. in °	—	- 2,6	- 2,4	- 2,4	- 2,19	+ 2,05	±	- 0,32	- 0,90	- 0,90	- 1,5
Dextrose vorhanden	3,10	2,85	2,71	2,66	2,63	3,52	4,66	4,46	3,83	3,82	2,07
Lävulose	3,10	2,93	2,74	2,73	2,71	0,88	2,68	2,63	2,59	2,58	1,93
Dextrose vergoren	—	0,25	0,39	0,44	0,47	0,23	1,09	1,29	1,93	1,93	3,68
Lävulose	—	0,17	0,36	0,37	0,39	0,05	0,23	0,27	0,32	0,33	0,98
Alkohol	—	0,21	0,35	0,36	0,4	Spur	0,62	0,77	1,12	1,12	2,32
Hefesaat	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23
Gesamtvermehrung	4830	6900	10120	10810	10920	4876	9200	10350	12420	12420	18653
Vermehrung einer Zelle	210	300	440	470	475	212	400	450	540	540	811
1 Million Hefezellen vergoren											
Dextrose in mg	—	0,36	0,38	0,40	0,43	0,47	1,18	1,24	1,55	1,55	1,97
Lävulose in mg	—	0,24	0,35	0,35	0,36	0,10	0,24	0,25	0,26	0,27	0,52
1 Million Hefezellen noch zur Verfügung											
Dextrose in mg	6,41	4,13	2,67	2,46	2,40	7,20	5,06	4,30	3,08	3,07	1,11
Lävulose in mg	6,41	4,24	2,70	2,52	2,48	2,09	2,92	2,54	2,08	2,07	1,05

Resultate.

Um die erhaltenen Resultate übersichtlicher zu gestalten, habe ich aus den Haupttabellen Auszüge gefertigt, aus welchen der Einfluß verschiedener Mengen der angewandten Zuckerarten, sowie der Art der Ernährung auf Vermehrung und Verlauf der Gärung zu ersehen ist (s. Tab. p. 224).

Von diesen kleinen Tabellen zeigt uns die erste die erwähnten Einflüsse bei der Vergärung der verschiedenen Lösungen durch die Hefe A, die zweite diejenigen durch die Hefe L.

Es ergibt sich daraus, daß, sobald der Dextrosezusatz 3 Proz. überschreitet und die zugefügte Saccharosemenge eine dementsprechende Verminderung erfährt, sowohl die Vermehrungsenergie als auch das Vermehrungsvermögen bei Hefewasserernährung eine kleine Einbuße erleiden, während die Vermehrungsenergie bei der Ernährung mit Asparagin erst bei dem Verhältnis von 2 Proz. Saccharose zu 8 Proz. Dextrose vermindert wird. Das Vermehrungsvermögen hingegen, welches ebenso wie die Vermehrungsenergie bei Asparaginernährung überhaupt geringer ist als bei Hefenwasserernährung, wie schon durch frühere Arbeiten der Nürnberger Station von Heß, Soldan, Korff nachgewiesen wurde,

V.

Saccharose + Dextrose.

Saccharose 4,5 ‰, Dextrose 4,5 ‰						Saccharose 2 ‰, Dextrose 6 ‰						Saccharose 2 ‰, Dextrose 8 ‰					
6,06						6,25						8,19					
2,10						1,04						1,03					
2	4	6	8	10	28	2	4	6	8	10	28	2	4	6	8	10	28
4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	1,97	1,97	1,97	1,97	1,97	1,97	1,96	1,96	1,96	1,96	1,96	1,96
3,96	3,96	3,96	3,96	3,96	3,96	5,22	5,22	5,22	5,22	5,22	5,22	7,16	7,16	7,16	7,16	7,16	7,16
4,21	7,04	6,60	5,59	4,98	3,40	5,58	6,69	6,30	5,25	4,60	2,41	7,24	8,80	7,50	6,45	5,70	2,39
3,49	—	—	—	—	—	1,23	—	—	—	—	—	1,52	—	—	—	—	—
0,51	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	0,74	1,97	1,97	1,97	1,97	1,97	0,44	1,96	1,96	1,96	1,96	1,96
2,75	100	100	100	100	100	37,56	100	100	100	100	100	22,45	100	100	100	100	100
+ 8,6	+ 1,6	+ 1,3	+ 0,5	+ 0,12	+ 0,23	+ 6,7	+ 4,6	+ 4,3	+ 3,6	+ 3	+ 1,2	+ 9,08	+ 6,45	+ 5,2	+ 4,5	+ 4,15	+ 1,2
- 4,74	—	—	—	—	—	+ 1,62	—	—	—	—	—	+ 2,01	—	—	—	—	—
+ 3,86	+ 1,6	+ 1,3	+ 0,5	+ 0,12	+ 0,23	+ 5,08	+ 4,6	+ 4,3	+ 3,6	+ 3	+ 1,2	+ 7,07	+ 6,45	+ 5,2	+ 4,5	+ 4,15	+ 1,2
4,01	5,07	4,68	3,76	3,24	2,20	5,30	5,84	5,52	4,57	3,96	1,94	7,04	7,82	6,57	5,69	5,06	1,98
0,20	1,97	1,92	1,83	1,74	1,20	0,28	0,85	0,78	0,67	0,64	0,47	0,20	0,98	0,93	0,76	0,64	0,41
0,22	0,99	1,38	2,30	2,82	3,86	0,30	0,41	0,73	1,68	2,29	4,31	0,35	0,37	1,62	2,50	3,13	6,30
0,07	0,12	0,18	0,27	0,36	0,80	0,10	0,18	0,25	0,36	0,39	0,56	0,03	0,05	0,10	0,27	0,39	0,64
0,14	0,56	0,77	1,28	1,57	2,33	0,19	0,29	0,48	1,02	1,33	2,43	0,18	0,22	0,87	1,40	1,77	3,43
23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23
8210	9430	13420	13440	13685	18400	5796	8050	10373	12558	13386	17250	5773	5934	8740	11730	12926	18515
270	410	540	580	595	800	252	350	451	546	582	750	251	258	380	510	562	805
0,35	1,04	1,17	1,73	2,06	2,09	0,51	0,51	0,70	1,33	1,71	2,49	0,60	0,61	1,85	2,13	2,42	3,40
0,11	0,12	0,13	0,20	0,26	0,43	0,17	0,22	0,23	0,27	0,28	0,32	0,05	0,08	0,11	0,23	0,30	0,35
6,45	5,37	3,48	2,81	2,36	1,19	9,14	7,25	5,32	3,63	2,93	1,12	12,20	12,84	7,51	4,85	3,91	1,06
3,05	2,08	1,42	1,37	1,27	0,64	1,29	1,05	0,75	0,53	0,47	0,27	1,43	1,50	1,06	0,64	0,49	0,22

wird durch Ueberschüsse von Dextrose nicht beeinflusst. Ebenso verhält es sich auch bei der Gärungsenergie: auch hier ist, da die Zahlen für reine Saccharoselösung fast die nämlichen sind, wie bei Lösungen, welche 2 Proz. Saccharose und 8 Proz. Dextrose enthalten, kein Einfluß weder in der einen noch anderen Richtung anzunehmen. Hingegen scheint erhöhter Dextrosegehalt das Gärvermögen sowohl bei Hefenwasser- als Asparaginer-nahrung etwas zu erhöhen.

Bei den Lävulosezusätzen sehen wir, von den allgemeinen, oben erwähnten prinzipiellen Unterschied abgesehen, welcher zwischen Hefenwasser- und Asparaginer-nahrung besteht, keine Unterschiede in der Vermehrungsenergie und dem Vermehrungsvermögen bei Hefenwasser durch erhöhten Lävulosegehalt; hingegen scheint bei Asparaginer-nahrung eine kleine Verminderung beider eingetreten zu sein.

Auch die Gärungsenergie hat keine bemerkenswerte Aenderung in den Hefewasserlösungen erfahren, während das Gärvermögen bei Asparaginer-nahrung um eine Kleinigkeit, ebenso wie bei erhöhtem Dextrosegehalt, zugenommen hat.

Etwas abweichend verhält sich die Hefe L, wie aus den vorstehenden Tabellen ersichtlich ist. Bei dieser bewirken Dextrose-

Tabelle VI.
Vergorene Zuckermengen nach 2, 4, 6, 8, 10, 28 Tagen
A-Hefe
Hefenwasser

Angewandte Menge	Sacch. 6 %		Sacch. 4,5 %		Sacch. 2 %		Sacch. 6 %		Sacch. 4,5 %		Sacch. 2 %		Sacch. 2 %	
	Dex-lose	Lävu-trose	Dex-lose	Lävu-trose	Dex-lose	Lävu-trose	Dex-lose	Lävu-trose	Dex-lose	Lävu-trose	Dex-lose	Lävu-trose	Dex-lose	Lävu-trose
Vor der Gärung ² vorhanden	3,10	3,10	6,40	2,28	6,35	1,036	8,21	1,005	3,10	3,10	5,75	2,91	6,06	2,10
Nach 2 Tagen vergoren	0,34	0,11	0,88	0,17	0,48	0,12	0,27	0,03	—	—	0,17	0,11	0,21	0,09
" 4 "	1,08	0,64	1,78	0,72	2,13	0,26	2,07	0,37	0,37	0,14	0,59	0,28	0,46	0,10
" 6 "	2,04	1,14	2,97	0,39	3,34	0,37	3,62	0,37	0,50	0,20	0,69	0,37	0,81	0,15
" 8 "	2,59	1,68	3,92	1,22	3,64	0,73	4,55	0,44	0,52	0,22	0,94	0,39	1,02	0,24
" 10 "	2,69	1,94	4,17	1,36	4,33	0,61	5,20	0,61	0,55	0,25	1,01	0,41	1,11	0,35
" 28 "	—	—	5,32	2,63	5,86	1,84	6,02	0,94	0,55	0,25	1,75	0,71	2,81	0,55

Angewandte Menge	Sacch. 6 %		Sacch. 4,5 %		Sacch. 2 %		Sacch. 6 %		Sacch. 4,5 %		Sacch. 2 %		Sacch. 2 %	
	Dex-lose	Lävu-trose	Dex-lose	Lävu-trose	Dex-lose	Lävu-trose	Dex-lose	Lävu-trose	Dex-lose	Lävu-trose	Dex-lose	Lävu-trose	Dex-lose	Lävu-trose
Vor der Gärung ² vorhanden	3,10	3,10	6,06	2,10	6,25	1,04	8,19	1,03	3,10	3,10	5,75	2,91	6,06	2,10
Nach 2 Tagen vergoren	1,10	0,60	0,76	0,23	0,89	0,14	1,06	0,21	—	—	0,23	0,05	0,22	0,07
" 4 "	2,31	1,49	2,82	0,35	2,48	0,28	1,36	0,23	0,25	0,17	1,09	0,23	0,99	0,12
" 6 "	2,85	2,33	3,82	1,19	4,01	0,80	1,98	0,25	0,39	0,36	1,29	0,27	1,38	0,18
" 8 "	3,10	3,10	4,58	1,54	4,58	1,49	3,22	0,73	0,44	0,37	1,93	0,32	2,82	0,27
" 10 "	3,10	3,10	5,82	2,04	5,54	0,84	5,59	0,73	0,47	0,39	1,93	0,33	2,80	0,36
" 28 "	—	—	5,75	2,91	6,25	1,03	7,78	0,89	—	—	3,68	0,98	3,86	0,80

Angewandte Menge	Sacch. 6 %		Sacch. 4,5 %		Sacch. 2 %		Sacch. 6 %		Sacch. 4,5 %		Sacch. 2 %		Sacch. 2 %	
	Dex-lose	Lävu-trose	Dex-lose	Lävu-trose	Dex-lose	Lävu-trose	Dex-lose	Lävu-trose	Dex-lose	Lävu-trose	Dex-lose	Lävu-trose	Dex-lose	Lävu-trose
Vor der Gärung ² vorhanden	2,76	5,80	1,86	6,17	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Nach 4 Tagen vergoren	0,15	0,25	0,02	0,30	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 10 "	1,22	1,62	0,64	1,53	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 28 "	2,02	2,78	1,44	2,82	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabello VII.
Vorhandene Zuckermengen nach 2, 4, 6, 8, 10, 28 Tagen.
Asparagin
A - Hefe

Angewandte Menge	Sacch. 6%		Sacch. 4,5%		Sacch. 2%		Sacch. 6%		Sacch. 4,5%		Sacch. 2%									
	Lävulose	Dextr. 3%	Lävulose	Dextr. 4,5%	Lävulose	Dextr. 8%	Lävulose	Dextr. 3%	Lävulose	Dextr. 4,5%	Lävulose	Dextr. 8%								
Vor der Gärung vorhanden	3,10	3,10	5,87	3,08	6,40	2,28	6,35	1,036	8,21	1,005	3,10	3,10	5,75	2,91	6,06	2,10	6,25	1,04	8,19	1,04
Nach 2 Tagen vorhanden	1,21	1,44	3,51	1,51	5,00	1,59	5,56	0,60	7,13	0,18	3,10	3,10	2,59	0,11	3,99	0,14	5,18	0,20	7,20	0,16
" 4 "	"	"	4,09	2,36	4,83	1,89	4,27	0,82	6,24	0,63	2,73	2,97	2,63	0,00	5,60	0,89	5,85	0,85	7,86	0,89
" 6 "	"	"	2,91	2,29	3,44	1,90	3,06	0,71	4,60	0,65	2,60	2,90	2,54	0,83	5,25	1,95	5,58	0,83	7,60	0,79
" 8 "	"	"	1,95	1,86	2,76	1,50	1,88	0,51	3,76	0,46	2,58	2,88	4,81	2,52	4,86	1,86	5,49	0,72	7,36	0,74
" 10 "	"	"	1,70	1,72	2,07	1,35	1,21	0,46	2,72	0,46	2,55	2,85	4,74	2,50	4,95	1,75	5,18	0,72	6,94	0,66
" 28 "	"	"	0,55	0,45	0,54	0,44	0,33	0,09	0,74	0,16	—	—	4,90	2,20	3,25	1,55	3,33	0,47	3,30	0,43
L - Hefe																				
Asparagin																				
Vor der Gärung vorhanden	3,10	3,10	5,75	2,91	6,06	2,10	6,25	1,04	8,19	1,03	3,10	3,10	5,75	2,91	6,06	2,10	6,25	1,04	8,19	1,03
Nach 2 Tagen vorhanden	2,00	2,51	3,45	1,35	5,30	1,87	5,34	0,89	7,13	0,82	3,10	3,10	3,52	0,88	4,01	0,20	5,30	0,28	7,04	0,20
" 4 "	"	"	3,09	2,23	3,24	1,75	3,77	0,75	6,88	0,80	2,85	2,93	4,66	2,68	5,07	1,97	5,94	0,85	7,82	0,98
" 6 "	"	"	1,93	1,72	2,18	1,30	2,93	0,63	6,21	0,78	2,71	2,74	4,46	2,63	4,68	1,92	5,52	0,78	6,57	0,93
" 8 "	"	"	0,84	1,37	1,48	1,13	1,94	0,56	4,97	0,71	2,66	2,73	3,83	2,59	3,76	1,83	4,57	0,67	5,69	0,76
" 10 "	"	"	0,40	0,87	0,53	0,51	0,71	0,24	2,60	0,30	2,63	2,71	3,82	2,58	3,24	1,74	3,96	0,64	5,06	0,64
" 28 "	"	"	—	—	—	—	—	—	0,41	0,14	—	—	2,07	1,93	2,20	1,20	1,94	0,47	1,98	0,41
A - Hefe																				
Asparagin																				
Vor der Gärung vorhanden	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Nach 2 Tagen vorhanden	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 6 "	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 8 "	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 10 "	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 28 "	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
L - Hefe																				
Asparagin																				
Vor der Gärung vorhanden	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Nach 2 Tagen vorhanden	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 6 "	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 8 "	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 10 "	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 28 "	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

A-Hefe
Dextrose im Ueberschuß

Art der Ernährung	Vermehrungsenergie		Vermehrungsvermögen		Gärungsenergie		Gärvermögen	
	Hefenwasser	Asparagin	Hefenwasser	Asparagin	Hefenwasser	Asparagin	Hefenwasser	Asparagin
1) Saccharose 6 Proz.	1200	420	—	—	0,62	0,55	—	—
2) Saccharose 6 Proz. Dextrose 3 Proz.	1250	450	2050	820	0,92	0,84	1,67	1,30
3) Saccharose 4,5 Proz. Dextrose 4,5 Proz.	1124	450	1890	788	0,67	0,55	1,76	1,84
4) Saccharose 2 Proz. Dextrose 6 Proz.	1100	480	1900	800	0,93	0,52	1,56	1,88
5) Saccharose 2 Proz. Dextrose 8 Proz.	1050	320	1860	811	0,62	0,62	1,93	2,88

Lävulose im Ueberschuß

1) Saccharose 6 Proz. Lävulose 3 Proz.	1050	420	1906	750	0,16	0,06	1,09	0,71
2) Saccharose 4,5 Proz. Lävulose 4,5 Proz.	998	415	1893	680	0,14	0,07	0,97	0,53
3) Saccharose 2 Proz. Lävulose 8 Proz.	1071	390	1910	675	0,17	0,26	1,13	0,90

L-Hefe
Dextrose im Ueberschuß

1) Saccharose 6 Proz.	1150	300	—	—	1,43	0,6	—	—
2) Saccharose 6 Proz. Dextrose 3 Proz.	1350	400	1900	811	1,05	1,42	1,97	2,19
3) Saccharose 4,5 Proz. Dextrose 4,5 Proz.	1320	410	1825	800	1,04	1,16	1,94	2,52
4) Saccharose 2 Proz. Dextrose 6 Proz.	1206	350	1830	750	0,99	0,73	1,72	2,81
5) Saccharose 2 Proz. Dextrose 8 Proz.	1090	258	1802	805	0,65	0,69	2,04	3,75

zusätze, sowohl in Hefenwasser- als Asparaginlösung, von 3 Proz. bis 4,5 Proz. eine Erhöhung, weitere Vermehrung von Dextrose hingegen Abnahme der Vermehrungsenergie. Das Vermehrungsvermögen aber wird in keinem Falle merklich beeinflusst.

Die Gärungsenergie nimmt bei erhöhtem Dextrosezusatz in Hefewasser fortschreitend ab, in Asparaginlösung bei Zusätzen von 3—4,5 Proz. zu, bei vermehrter Dextrose jedoch wieder ab, bis sie schließlich wieder die für reine Saccharoselösung ermittelte Gärungsenergie erreicht. Das Gärvermögen der Hefe L bleibt bei Erhöhung des Dextrosegehaltes in Hefewasserlösungen gleich, nimmt aber in Asparaginlösungen ständig mit Vermehrung des Dextrosegehaltes zu.

Diese Ergebnisse lehren, daß sich verschiedene Hefen unterschiedlich gegenüber den Zuckerzusätzen verhalten und auch verschieden durch die jeweilige Stickstoffernährung beeinflusst werden.

Wenn ich mich nun zur Beantwortung der Frage wende, ob es im Sinne Pfeffer's möglich gewesen ist, eine der angewandten Zuckerarten durch die andere vollständig vor Verarbeitung zu schützen, so ergibt sich aus der Tabelle, in welcher ich die innerhalb bestimmter Zeiten vergorenen Zuckermengen zusammengestellt

habe, daß mir dies ebensowenig wie Pfeffer gelungen ist. Es vergären die Zucker nebeneinander. Thatsache jedoch ist, daß bei Ueberschuß von Dextrose bezw. von Lävulose sowohl die Vergärung von Lävulose als auch die von Dextrose in bestimmten Gärungsstadien auf ein Minimum reduziert werden kann, sobald der Ueberschuß der zu schonenden Zuckerart über die andere bei einem gewissen Gesamtzuckergehalt der Flüssigkeit eine bestimmte Größe erreicht hat.

So waren z. B. von L-Hefe in der Hefenwasserlösung mit einem Gehalt von 8,19 Proz. Dextrose und 1,03 Proz. Lävulose am 8. Tage schon 3,22 Proz. Dextrose, jedoch nur 0,32 Proz. Lävulose vergoren.

Dasselbe Verhältnis finden wir auch bei dieser Hefe in der Asparaginlösung mit gleichem Zuckerverhältnis: auch hier betrug am 8. Tage die vergorene Lävulosemenge nur den 10. Teil der vergorenen Dextrose.

Bei Hefe A in Hefenwasserlösung mit demselben Zuckergehalt ist das Verhältnis dasselbe, während diese Hefe bei Asparaginer-nährung stets etwas mehr Lävulose mit Dextrose vergärt als dem Verhältnis von 1 : 10 entspricht.

Es beweist dies, daß die Art der Stickstoffernährung nicht ohne Einfluß auf das Verhältnis ist, in welchem gleichzeitig anwesende Zucker nebeneinander vergoren werden.

Sehr interessant ist die Thatsache, daß Hefe A bei Lävuloseüberschüssen sowohl in Hefewasser- als Asparaginlösung in den ersten 4 Tagen bei einem Gehalte von 6,17 Proz. Lävulose und 1,86 Proz. Dextrose und 8,22 Proz. Lävulose und 0,82 Proz. Dextrose bezw. 7,87 Proz. Lävulose und 0,98 Proz. Dextrose nicht mehr als 0,02 g Dextrose, in einigen Fällen sogar nur 0,01 g vergoren hat. Hier ist der Schutz der Dextrose durch Lävulose fast vollständig erreicht. Es geht aber daraus auch hervor, daß es gelingt, mit relativ geringem Ueberschuß von Lävulose mehr Dextrose vor der Spaltung zu schützen als umgekehrt.

Diese Resultate rechtfertigen aber den Schluß, daß der vollständige Schutz einer Zuckerart vor Vergärung durch genügend großen Ueberschuß einer anderen gleichwertigen Zuckerart bei entsprechender Stickstoffernährung zu erreichen ist; und auch mir würde dies sicherlich gelungen sein, wenn ich meine Versuche nicht hätte abbrechen müssen, sondern in diesem Sinne würde fortgesetzt haben.

Das Verhältnis, in welchem die Zuckerarten nebeneinander vergären, ist am deutlichsten aus den nachstehenden Tabellen ersichtlich, in welchen dasselbe in Prozenten zum Ausdruck gebracht wird. In diesen Zusammenstellungen wurden die Dextrosemengen, welche von 1 Million Hefezellen nach 10 und 28 Tagen vergoren worden sind, gleich 100 ($D = 100$) gesetzt und berechnet, ferner wieviel Lävulose jeweils neben 100 Gewichtsteilen Dextrose sowohl bei Dextrose- als Lävuloseüberschuß vergoren worden ist.

A - Hefe.
1 Million Hefezellen vergoren Lävulose (D = 100).
Hefenwasser.
Lävulose im Ueberschuß.

Tag	Sacch. 6 %, Lävul. 3 %	Sacch. 4,5 %, Lävul. 4,5 %	Sacch. 2 %, Lävul. 8 %
10	131,03 %	246,66 %	644,44 %
28	136,95 %	193,44 %	564,70 %
Asparagin			
10	165,00 %	566,66 %	1425 %
28	136,66 %	381,88 %	1400 %

A - Hefe.
1 Million Hefezellen vergoren Lävulose (D = 100).
Hefenwasser
Dextrose im Ueberschuß.

Tag	Saccharose 6 %	Sacch. 6 % Dextr. 3 %	Sacch. 4,5 % Dextr. 4,5 %	Sacch. 2 % Dextr. 6 %	Sacch. 2 % Dextr. 8 %
10	68,92 %	33,29 %	20,91 %	11,29 %	10,00 %
18	—	49,10 %	31,34 %	15,55 %	10,91 %
Asparagin					
10	46,00 %	43,42 %	30,77 %	29,63 %	29,00 %
28	—	41,30 %	19,48 %	18,98 %	12,50 %

L - Hefe.
1 Million Hefezellen vergoren Lävulose (D = 100).
Hefenwasser.
Dextrose im Ueberschuß.

Tag	Saccharose 6 %	Sacch. 6 % Dextr. 3 %	Sacch. 4,5 % Dextr. 4,5 %	Sacch. 2 % Dextr. 6 %	Sacch. 2 % Dextr. 8 %
10	100,00 %	37,21 %	26,95 %	15,07 %	10,74 %
28	—	50,38 %	34,72 %	16,21 %	9,62 %
Asparagin					
10	83,72 %	17,42 %	12,62 %	16,37 %	12,39 %
28	—	26,40 %	20,57 %	12,86 %	10,29 %

Die Resultate decken sich im allgemeinen mit den oben mitgeteilten; auch sie lehren, daß Lävulose Dextrose unter gleichen Verhältnissen besser vor Spaltung schützt als Dextrose die Lävulose, wenn wir sehen, daß bei Dextroseüberschuß im günstigsten Falle auf 9 Teile Dextrose 1 Teil Lävulose vergärt, während bei Lävuloseüberschuß auf 13 Teile Lävulose nur 1 Teil Dextrose vergoren worden ist.

Recht deutlich geht auch der Einfluß der verschiedenen Stickstoffernährung aus den Tabellen hervor. Man sieht, daß bei Asparaginernährung großer Dextroseüberschuß die Lävulose weniger vor der Vergärung zu schützen vermag als Hefenwasser, daß aber bei Asparaginernährung und großem Lävuloseüberschuß mehr Dextrose vor der Spaltung bewahrt wird als bei Hefenwasser.

Diese Verhältnisse gelten für die Hefe A. Bei den Versuchen mit Hefe L, welche nur mit Dextroseüberschüssen angestellt wurden, sind die Zahlen teilweise widersprechend und die Unterschiede, welche bei den größten Dextrosezusätzen gefunden wurden, zu gering, um hieraus auch Abweichungen über den Einfluß von Hefewasser- und Asparaginer-nahrung mit Sicherheit schließen zu können.

Zum Schlusse habe ich noch zu erörtern, wie sich meine Ergebnisse zu denjenigen der im Eingang aufgeführten Forscher, welche sich mit ähnlichen Versuchen beschäftigten, verhalten.

Die Vergärung der reinen Saccharoselösung, welche als Vergärung eines aus gleichen Teilen Dextrose und Lävulose bestehenden Gemisches zu betrachten ist, erfolgt genau so, wie Prior, Hiepe und Borträger angegeben haben. Auch bestätigen meine Versuche die Angaben Prior's und anderer Forscher, wonach Dextrose von der lebenden Hefezelle, insofern sich solche, wie bei meinen Versuchen, in gleichem Vegetationszustand befindet, rascher vergoren wird als Lävulose, wenn man die Flüssigkeiten mit höchstem Lävulose- und höchstem Dextrosezusatz als reine Lävulose- bzw. Dextroselösungen ansieht, was wohl berechtigt erscheint.

Aus den Tabellen war ferner zu sehen, daß 1 Million Zellen der Hefe L bei Hefewasserernährung nach 28 Tagen in den Versuchen mit höchstem Dextroseüberschuß 1,74 mg, bei Asparaginer-nahrung 2,56 mg Dextrose vergoren hatte. 1 Million Zellen der Hefe A in dem gleichen Vegetationszustande hatten nach 28 Tagen bei Hefewasserernährung und höchstem Lävulosezusatz hingegen nur 0,96 mg Lävulose, bei Asparaginer-nahrung nur 0,84 mg Lävulose vergoren.

Nach diesem Befund, der auch mit den eingangs erwähnten, noch nicht publizierten neuesten Versuchen von E. Prior und H. Schulze im Einklang steht, können die oben mitgetheilten gegenteiligen Resultate E. Buchner's nur in der von ihm gewählten Versuchsanstellung — verhältnismäßig sehr viel Hefe und wenig Zucker — ihre Ursache haben; denn weder die Prior'schen noch meine Resultate können auf Plasmaverschiedenheiten oder Unterschiede im Enzymgehalt des Plasmas der Hefezellen zurückgeführt werden, da stets Hefen in gleicher Weise gezüchtet, in gleichem Ernährungszustande und im gleichen Alter, also genau in demselben Vegetationszustand bei diesen Versuchen angewendet wurden.

Die Unterschiede in der Schnelligkeit der Vergärung der verschiedenen Zuckerarten und vergärbaren Kohlehydraten sind lediglich auf physikalische Gesetze, welche Pfeffer in seiner oben erwähnten Abhandlung geschildert und Prior vor einigen Jahren in einer ausführlichen Abhandlung über die Beziehungen des osmotischen Druckes zu dem Leben der Hefe und den Gärungs-erscheinungen klargelegt hat, zurückzuführen.

Es ist dies auch vollkommen klar, wenn man berücksichtigt, daß die Vergärung des Zuckers nach den Beobachtungen Buch-

ner's im Innern der Hefezelle von statten geht, und bei der Vergärung mit Hefepreßsaft der Zucker mit dem die Spaltung bewirkenden Enzym, der Zymase, direkt in Berührung gebracht wird. In letzterem Falle erscheint es daher fast selbstverständlich, daß zwei so nahe verwandte Zucker, wie Glukose und Fruktose, gleich schnell vergoren werden. Anders aber liegt die Sache bei der Vergärung durch die lebende Hefe; hier müssen die Nährstoffe zuerst die Zellmembran passieren, bevor sie mit dem Plasma in Berührung kommen und von diesem chemisch gespalten und umgewandelt werden.

Der Eintritt der Nährstoffe in die Zelle erfolgt, wie Prior in seiner Abhandlung dargelegt hat, nach osmotischen Gesetzen, wobei das Durchlässigkeitsvermögen der Hefezelle, das sich mit dem Vegetationszustande ändern kann, das Diffusionsvermögen der Nährstoffe, ferner die Wechselwirkung zwischen dem osmotischen Druck der Nährflüssigkeit und des Zellinhaltes die einflußreichen Faktoren darstellen.

Wenden wir die von Prior entwickelten Gesetzmäßigkeiten in dem vorliegenden Falle an, so wird es leicht natürlich, warum bei Anwesenheit von Dextrose und Lävulose in gleichen Mengenverhältnissen zuerst Dextrose in größerer Menge vergoren wird, obwohl der osmotische Druck der beiden Nährmittel in der Flüssigkeit gleich ist: Die Dextrose besitzt nämlich ein größeres Diffusionsvermögen als die Lävulose. Mit Abnahme der Dextrose in der Flüssigkeit geht auch der osmotische Druck dieser Zuckerart zurück, während derjenige der Lävulose zunimmt. In den späteren Stadien der Gärung überwiegt daher der osmotische Druckanteil der Lävulose den der Dextrose und muß infolgedessen, sobald der höhere Druck den Unterschied im Diffusionsvermögen zwischen den beiden Zuckern ausgeglichen hat, mehr Lävulose in das Zellinnere diffundieren und vergoren werden als Dextrose.

Wird schon von Anfang an soviel Lävulose zugefügt, daß auf diese ein erheblich höherer osmotischer Druck trifft als der Dextrose entspricht, so vergärt selbstredend in einer solchen Flüssigkeit von vornherein mehr Lävulose als Dextrose. Ebenso ist es auch dem größeren Diffusionsvermögen der Dextrose zuzuschreiben, daß die Hefezelle in demselben Vegetationszustand unter gleichen Nährbedingungen und Verhältnissen die Dextrose rascher vergärt als die Lävulose.

Aus den vorstehenden Auseinandersetzungen ergibt sich, daß die von mir erhaltenen Resultate mit den grundlegenden Pfefferschen Versuchen und den daraus abgeleiteten osmotischen Gesetzmäßigkeiten und entwickelten theoretischen Anschauungen Prior's über die Assimilation bzw. Vergärbarkeit der Hefenährstoffe und Zuckerarten in allen Teilen übereinstimmen.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Kenntnis der Baumflüsse und einiger ihrer Bewohner.

Von Dr. **Wilhelm Holtz** in Freiburg i. Br.

Mit 2 Tafeln und 6 Abbildungen.

(Fortsetzung.)

Auf Grund seiner Resultate glaubt Brefeld, berechtigt zu sein, die Notwendigkeit einer Trennung des *Endomyces Magnusii* in 2 Formen, nämlich in eine ausschließlich Gonidienbildende einerseits und in eine nebenbei noch Asci produzierende andererseits, zu bestreiten. Jedenfalls handle es sich bei den Hansen'schen Versuchen um die gleiche Form, es gelang Hansen nur nicht, dieselbe zur Ascusfruktifikation zu bringen. Brefeld's Untersuchungen über Ludwig's *Saccharomyces* sind insofern nicht ohne Interesse, als es ihm nicht gelang, diese Art zur Endosporenbildung zu veranlassen. Dennoch hält Brefeld eine genetische Verbindung mit *Endomyces Magnusii* für rein ausgeschlossen. Da letztere alkoholische Gärung nicht zu erregen vermag, wie seine Versuche deutlich gezeigt haben, so glaubt Brefeld, in der Eichenhefe in erster Linie die Ursache der Eichen-gärung erblicken zu müssen.

Die Brefeld'schen Untersuchungen ließen bezüglich der von ihm untersuchten *Oidium*- und *Mycelformen* keinen Zweifel mehr bestehen, und es war für Hansen, der, wie bereits erwähnt, in dieser Hinsicht zu den entgegengesetzten Resultaten gekommen war, naheliegend, daraufhin seine früheren Versuche eventuell nach den von Brefeld befolgten Methoden zu wiederholen. Es stand ihm diesmal, abgesehen von dem eigenen selbst gesammelten, noch außerdem Material zur Verfügung, das ihm Ludwig zugesandt hatte, enthielt dieses auch keine *Mycelien* in Ascusfruktifikation, so durfte Hansen doch sicher sein, diejenige Art vor sich zu haben, die auch Ludwig (wenigstens in der Mehrzahl der Fälle) vorgelegen hatte.

Hansen setzte eine große Zahl von Kulturen in Gang, zum Teil genau nach der von Brefeld gegebenen Anweisung, die Ascusfruktifikation trat indessen nirgends ein. Hieraus, sowie aus dem Umstande, daß Brefeld's *Oidium* keine Gärung erregte, während das seinige, sowie das Ludwig'sche *Oidium* gerade eine sehr lebhaftige Gärung ergaben, glaubt Hansen schließen zu müssen, daß die beiden letzteren, mit welchen er selbst experimentierte, verschieden seien von demjenigen, welches in den Entwicklungscyklus des *Endomyces Magnusii* Ludwig gehört und welches offenbar das Material zu Brefeld's Untersuchungen bildete. Hansen kam also nur dazu, seine bereits früher ausgesprochene Ansicht nochmals zu bestätigen.

Diese widersprechenden Resultate bewogen Ludwig (12) dazu, an die Ergebnisse seiner eigenen Untersuchungen bezüglich der

Zusammengehörigkeit obiger Formen zu erinnern, er habe diese letztere zur Genüge bewiesen. Eine Veranlassung zu einer Trennung in 2 Formen, wie es Hansen befürwortete, läge also nicht vor. Man könnte allenfalls geneigt sein, 2 Eichen-*Endomyces*-Arten aufzustellen, die sich durch das Gärvermögen voneinander unterscheiden, dieser Grund zu einer Trennung sei aber doch zu wenig stichhaltig. Was die Eichenhefe, *Saccharomyces Ludwigii* Hansen betreffe, so sei er der festen Ueberzeugung, daß auch sie mit *Endomyces Magnusii* Ludwig in genetischer Verbindung stehe, da er sie im Schleime wiederholt in organischem Zusammenhange mit den in der *Leuconostoc*-Gallerte geschwächten Mycel-ästen angetroffen habe. Von letzterer Ansicht scheint sich übrigens Ludwig später bekehrt zu haben, denn in einer übersichtlichen Zusammenstellung seiner sämtlichen Resultate (19) finden wir seine diesbezügliche frühere Anschauung nicht mehr hervorgehoben. Es müßte sich nur bei der auf p. 338 oben Zeile 14—15 gemachten etwas unklaren Bemerkung: „Bedeutende Schwankungen in den Dimensionen des *Endomyces*-Mycels treten besonders da auf... wo die Hefebildung im Gange ist“ um die bewußten genetischen Beziehungen handeln.

Ebenda finden sich auch erstmals Mitteilungen über die Beobachtung von Chlamydosporen am *Endomyces*-Mycel, allerdings ohne die nötigen Abbildungen. Diese Sporen sollen nach Ludwig besonders bei ungünstigen Ernährungsverhältnissen während der Askenbildung (die Ludwig aber in keinem Falle herbeiführen konnte!) entstehen. So erhielt genannter Forscher ausnahmslos Chlamydosporen anstatt der Asci bei Zusatz von Rohrzucker zur Fleischpeptonnährgelatine, auf welcher der Pilz gezogen wurde.

Wie die vorstehende Litteraturübersicht zeigt, sind die Fragen nach der Zugehörigkeit der verschiedenen im Schleimflusse der Eiche gefundenen Oïdien noch keineswegs definitiv beantwortet. Denn, war man sich auch darüber einig, daß eine genetische Verbindung der genannten Oïdien mit der *Saccharomyces*-Hefe nicht bestehe, so gingen die Ansichten über die Entwicklungsgeschichte der Oïdien selbst sehr auseinander. Es hatte daher Interesse, mit dem von uns aus dem Eichenschleime isolierten Oïdium Untersuchungen in der gleichen Richtung vorzunehmen. Mochte dabei auch die Aussicht auf wichtige Ergebnisse gering sein, so mußten erneute Versuche doch zur kritischen Sonderung widersprechender Angaben führen.

Gute Beschreibungen und Abbildungen, wie sie sich in der Litteratur vorfanden, ließen keinen Zweifel bestehen, daß es sich auch hier um das Ludwig'sche Oïdium handle. Dennoch beschloß ich, um ganz sicher zu sein, Prof. Dr. E. Ch. Hansen um eine Vergleichung meines Oïdiums mit dem seinigen zu bitten. Prof. Hansen kam mir in der lebenswürdigsten Weise entgegen und konnte auf Grund einiger komparativer Untersuchungen die völlige Identität meines Materials mit dem seinigen konstatieren. Es gereicht mir zur besonderen Ehre, an dieser

Stelle Herrn Prof. Dr. Hansen nochmals meinen verbindlichsten Dank hierfür aussprechen zu dürfen.

Bei unseren Untersuchungen wurde stets mit Reinkulturen gearbeitet, in der Regel bedienten wir uns hierbei der feuchten Kammer System Schulze. Die Kammern wurden jeweils mit einem Tropfen Nährsubstanz beschickt, in welche Gonidien bezw. Mycelstücke des Pilzes eingebracht wurden. Außerdem legten wir Kulturen in größeren Quantitäten Nährmaterial an, in Würze, Gelatine (sowohl Würze- als Fleischwasserpeptonnährgelatine), Bouillon, mineralischen Nährlösungen, Birkensaft u. a. m., und zwar im Kolben, Reagenzglase, im Gärkölbchen, in Kulturschale. Von festen Nährsubstraten kamen besonders Kartoffelscheiben zur Verwendung. Von einer erschöpfenden Aufzählung aller hierher gehörenden Kulturversuche und Methoden kann füglich abgesehen werden.

a) Das Mycelium des Oïdiums.

Ludwig hat in seiner schon mehrfach citierten ersten Publikation eine ausführliche Beschreibung des *Endomyces-Mycels* oder vielmehr des Mycels des *Endomyces-Oïdiums*, welches letztere wir hier, dem Beispiele Hansen's folgend, als besondere Form unter dem Namen *Oïdium Ludwigi* Hansen beschreiben, gegeben. Hiernach ist dieses Mycel hauptsächlich an der vorwiegend unilateralen Verzweigung kenntlich. Ausnahmen von diesem Verzweigungssystem treten aber immerhin häufig auf. Dieses faßt Ludwig als *Symphodium* auf, er sagt (1. p. XXII, oben): ... Plötzliche Verschmälerung des Sprossendes scheint überhaupt eine Eigentümlichkeit des Pilzes zu sein. Sie tritt sehr häufig in der Weise auf, daß die Hauptachse an der den Seitenästen entgegengesetzten Seite abgestuft ist, während die andere Seite sich in die des dünneren, sich bald durch eine Zellwand abgliedernden Sprosses fortsetzt. In späteren Stadien findet man den

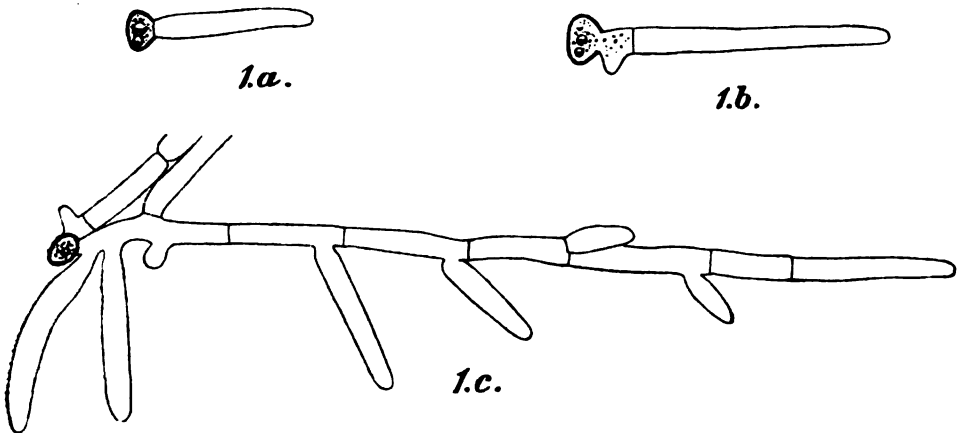


Fig. 1.

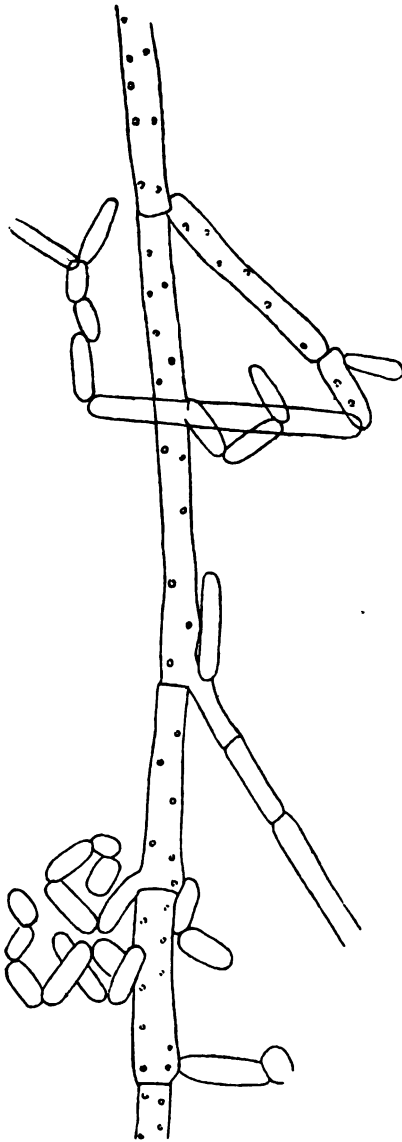


Fig. 2.

verjüngten Hauptast zur Seite gedrängt, durch einen unterhalb der Verjüngung entspringenden stärkeren Seitenast, welcher die Fortsetzung der Hauptachse zu bilden scheint.“ Wäre diese Auffassung Ludwig's richtig, dann müßte jene Verdrängung der schwächeren Haupthyphe durch eine stärkere seitliche eine regelmäßige oder doch wenigstens vorherrschende Erscheinung am wachsenden Mycel sein. Dies ist aber offenbar nicht der Fall. Verfolgt man nämlich den aus der Spore (Gonidie) ausgekeimten Hyphenschlauch (Fig. 1 a) in seiner weiteren Entwicklung, so zeigt es sich, daß er zunächst bis zu einer gewissen, oft ziemlich bedeutenden Länge heranwächst, und daß es erst zur Bildung einer (Fig. 1 b), manchmal sogar zu einer zweiten, dritten Scheidewand in bestimmter Entfernung vom Scheitelende der Hyphe kommt, ehe Anzeichen der Entstehung von seitlichen Hyphenzweigen auftreten (Fig. 2 c). Diese erscheinen anfangs als knopfförmige Hervorstülpungen gewöhnlich direkt unterhalb der dem Scheitelende der Hyphe abgewandten Seite der Zellwand, sie nehmen also ihren Ursprung von Hyphenzellen, die schon annähernd vollständig ausgebildet und demgemäß beträchtlichen Abstand vom Vegetationspunkt haben. Die seitlichen Ausstülpungen wachsen dann meist rasch in die Länge und werden gleich den Haupthyphe zu schlauchförmigen

Gebilden, an denen sich dieselben Vorgänge der Scheidewand- und Seitenzweigbildung wiederholen können, so daß schließlich oft Seitenäste 3. und 4. Ordnung entstehen.

Unter normalen Umständen werden die Seitenhyphen in akropetalen Reihenfolge immer in gewissem Abstände vom Scheitel-

ende der Haupthyphe her angelegt, der diesem letzteren am nächsten kommende Seitenast ist demnach der jüngste und zugleich der kürzeste. Die Anlage kann unilateral oder bilateral erfolgen, manchmal aber geschieht sie vollständig regellos.

Leider ist eine länger andauernde Verfolgung des Hyphenwachstums nicht gut möglich, weil schon nach Ablauf weniger Stunden unter normalen Umständen ein Zerfall der Hyphen unter dem Mikroskop eintritt.

Eine Tinktion wurde mit den gewöhnlichen Farbstoffen in genügendem Maße erreicht. Was speziell die Kernfärbung anbetrifft, so gelang dieselbe besonders bei Anwendung von Jodwasser mit Eosin, von Hämalaun und Hämatoxylin.

Letzteres gab indessen weitaus die besten Resultate bei folgendem Verfahren: Das Material wurde, nachdem es zuvor in destilliertem Wasser abgewaschen worden war, in eine Fixierlösung von verdünnter Osmium-Pikrin-Platinchlorid-Essigsäure (von Rath's Gemisch) (1 : 5) gebracht und hierin etwa 5 Minuten belassen, sodann ward das Material in 70-proz. Alkohol abgewaschen und sofort in eine sehr verdünnte Hämatoxylin-(Kleinenberg-) Lösung eingelegt (2 Tropfen auf 50 ccm); nach ca. 20—24 Stunden war eine intensive Färbung der Kerne eingetreten, während sich der übrige Zellinhalt nur leicht tingiert zeigte.

Die Hyphenzellen sind in den ersten Stadien ihrer Bildung noch vollständig mit Plasma erfüllt, wenigstens sind Differenzierungen im Inhalt noch kaum wahrzunehmen. Bald treten indessen vereinzelte Vakuolen auf, die sich mehr und mehr vergrößern, bis schließlich in den älteren Hyphenzellen das Protoplasma als dünner Belag an die Wand gedrückt erscheint. Der Inhalt jugendlicher Zellen weist eine blaß-grüngraue Färbung auf.

In den älteren Hyphenzellen kommen später da und dort körnige Gebilde zum Vorschein, die sich übrigens durch Tinktion schon bei jüngeren Zellen konstatieren lassen, und in noch weiter vorgerückten Stadien entstehen oft, meist unter gleichzeitiger mehr oder weniger beträchtlicher Membranverdickung, fett- bzw. öllartige Körper in Tropfenform.

Wenn die Hyphenenden ihr Wachstum eingestellt haben, so wird gewöhnlich auch in ihnen eine Differenzierung des Inhaltes durch Körnerbildung bemerkbar. Die Größe sowie Häufigkeit des Auftretens all dieser Bildungen unterliegt begrifflicherweise großen Schwankungen. Alle Hyphenzellen sind vielkernig, und zwar bewegt sich die Zahl der Kerne innerhalb ziemlich weiter Grenzen. Die einzelnen Kerne liegen bei jungen Zellen regellos im Plasma zerstreut, bei älteren im protoplasmatischen Wandbelag (Taf. I, Fig. 1). Sie sind als zart umschriebene Gebilde mit einer stärker tingierten centralen Partie erkennbar und mit anderen, ebenfalls gefärbten körnigen Gebilden innerhalb der Zelle kaum zu verwechseln. Am intensivsten färben sich die im lebhaften Wachstum begriffenen Hyphenenden und ihre Kerne. Bei dem nahe verwandten *Oidium lactis* wurden die Kerne erstmals von Schmitz nachgewiesen (De Bary. p. 7).

Die beginnende Anlage der Seitenhyphe giebt sich als leichte Aussackung des Zelleibes gewöhnlich unmittelbar unterhalb einer Scheidewand zu erkennen. Diese Aussackung erweitert sich rasch zu einem mehr knopf- bzw. keulenförmigen Gebilde, das einen homogenen, plasmatischen Inhalt aufweist. Erst in diesem und den folgenden Stadien kann das Auftreten von Kernen in den Ausstülpungen konstatiert werden, in welche sie zweifelsohne die Plasmaströmung einführt.

Das Mycel tritt in typischer Weise im Eichensaft- bzw. Schleimflusse, außerdem auf fast sämtlichen künstlichen Nährsubstraten, in denen der Pilz überhaupt entsprechendes Gedeihen findet, auf; besonders kräftig entwickelt in jungen Würzekulturen. Hier bildet es zuerst kleine, dichte, gelbliche Flöckchen unter der Kahlhaut, besonders an den blasigen Stellen derselben. Diese Flöckchen vergrößern sich zum Teil und sinken zu Boden, um dort (besonders in alten Kulturen) zu dichten, zusammenhängenden, gelbfilzigen Massen sich anzusammeln. In einigen Fällen gelang es, das Mycel als solches weiterzuzüchten. Es wurden Mycelstücke aus einer 14 Tage alten Würzekultur in ein Reagenzglas mit Bouillon gebracht; sie sanken dort rasch zu Boden und waren nach 4 Wochen zu einem filzigen, 1 cm hohen und etwa ebenso breiten Knäuel angewachsen, an dessen Oberfläche die zahlreichen, nach außen starrenden, verzweigten Hyphenenden mit der Lupe gut zu erkennen waren. Bei der später vorgenommenen mikroskopischen Untersuchung zeigte sich, daß die ganze Masse aus einem dichten Gewirr von Hyphen bestand, Gonidien dagegen so gut wie gar nicht gebildet waren. Auch in Bierwürze gelang es auf diese Weise, wenigstens eine Zeit lang reines Mycel zu kultivieren.

Die von Ludwig (1) gegebenen Abbildungen veranschaulichen den morphologischen Aufbau des Mycels in sehr instruktiver Weise.

b) Die Fortpflanzung des Oidium.

Bereits früher wurde erwähnt, daß die Gonidienbildung der einzige bis jetzt bekannte Fortpflanzungsmodus des Oidium ist; denn es gelang weder im Eichenschleime irgend eine andere Fruktifikationsform nachzuweisen, noch auf dem Wege künstlicher Züchtung eine solche hervorzurufen. Ließ auch die große Uebereinstimmung, die unser Oidium mit dem von Hansen einst isolierten in physiologischer und morphologischer Hinsicht zeigte, ein wesentlich anderes Resultat bezüglich der genetischen Untersuchungen, als es genannter Forscher erzielt, nicht erwarten, so durfte doch aus naheliegenden Gründen von Versuchen in jener Richtung nicht ganz abgesehen werden. Diese letzteren wurden denn auch, teils genau nach der Brefeld'schen Anweisung, teils in verschiedenen Modifikationen ausgeführt, ergaben indessen alle nur negative Resultate. Nirgends kam es zur Bildung von Ascii oder einer anderen, bisher unbekanntem Fruktifikationsform, sondern stets ward die Entwicklung durch die exogene Gonidienbildung abgeschlossen. Diese vollzieht sich nach einem besonderen Modus, für den

de Bary die Bezeichnung Querzergliederung eingeführt hat und die ganz allgemein darin besteht, daß ein Hyphen- bzw. Zweigende zuerst auf eine bestimmte Länge heranwächst, dann sein Längenwachstum sistiert und nun durch Querwände in eine Anzahl Sporenzellen zerteilt wird. De Bary beschreibt die Entstehungsart an *Oidium lactis*, dessen aus dem Substrat in die Luft ragenden Zweige in übersichtlicher Form die Erscheinung zeigten. „Diese Zweige erhalten Cylinderform und werden viele Male länger als breit. Nach vollendeter Streckung zerfallen sie rasch durch Querwandbildung in zahlreiche cylindrische Sporen, deren Länge die Breite meist 1—2mal übertrifft. Bei kleineren Exemplaren kann sich diese quere Zergliederung über die ganze Pflanze, auch die im Substrat als Mycelium verbreiteten Zweige, erstrecken. Die Querwandbildung scheint bei den kräftigen Exemplaren am freien Scheitelende zu beginnen und basipetal fortzuschreiten, doch ist dies ebensowenig sicher entschieden, wie die Frage, ob der sporenbildende Zweig zuerst aus einer Anzahl längerer Zellen besteht und diese dann durch interkalar wiederholte Zweiteilungen in die kurzen Glieder zerfallen, oder ob diese in dem bis dahin einzelligen Zweige direkt abgegrenzt werden, sei es simultan, sei es basipetal-succedan.“

Aus dem Schlusse vorstehender Beschreibung geht hervor, daß de Bary das ausschließliche Vorkommen des einen oder anderen Teilungsvorganges bei *Oidium lactis* vermutet.

Auch bei unserem *Oidium* entstehen die Gonidien in analoger Weise durch Zerfall eines mehr oder weniger hyphen- oder schlauchartigen Gebildes. Innerhalb des durch den soeben ange deuteten Vorgang gegebenen Rahmens sind aber gerade die Modifikationen vorhanden, deren Möglichkeit von de Bary bei *Oidium lactis* erörtert wurde. Sie ergeben sich indessen, wie später noch dargethan wird, nur dann, wenn wir unter Gonidie ganz allgemein jede am Mycel besonders abgegrenzte bzw. als solche frei gewordene Zelle verstehen.

Gehen wir zunächst vom Mycel aus und beobachten dasselbe, wenn es in das Stadium der Gonidienbildung eintritt (Mycel aus einer älteren Würzekultur in destilliertem Wasser oder frischer Nährlösung), so sehen wir, daß die Gonidien nicht nur durch Zerfall kleiner, an den Hyphen seitlich entstandener Zweige sich bilden¹⁾, sondern daß auch die Hyphen selbst durch Teilung in Gonidien zerlegt werden. Beide Entstehungsweisen gehen immer neben einander her, öfters allerdings unter Ueberwiegen der einen oder anderen, und läßt sich nur durch Verfolgung des Einzelfalles feststellen, welche Bildungsart der Gonidien gerade vorliegt. Die erstgenannte tritt besonders deutlich zu Tage, wenn älteres Mycel (z. B. aus einer Bouillonkultur) in destilliertes Wasser gebracht wird. Schon nach Verlauf einer Stunde sieht man zahlreiche seitliche Ausstülpungen an den Hyphen und ihren Aesten entstehen, die zu kurzen schlauchartigen Gebilden austreiben, und nach

1) Fig. 2.

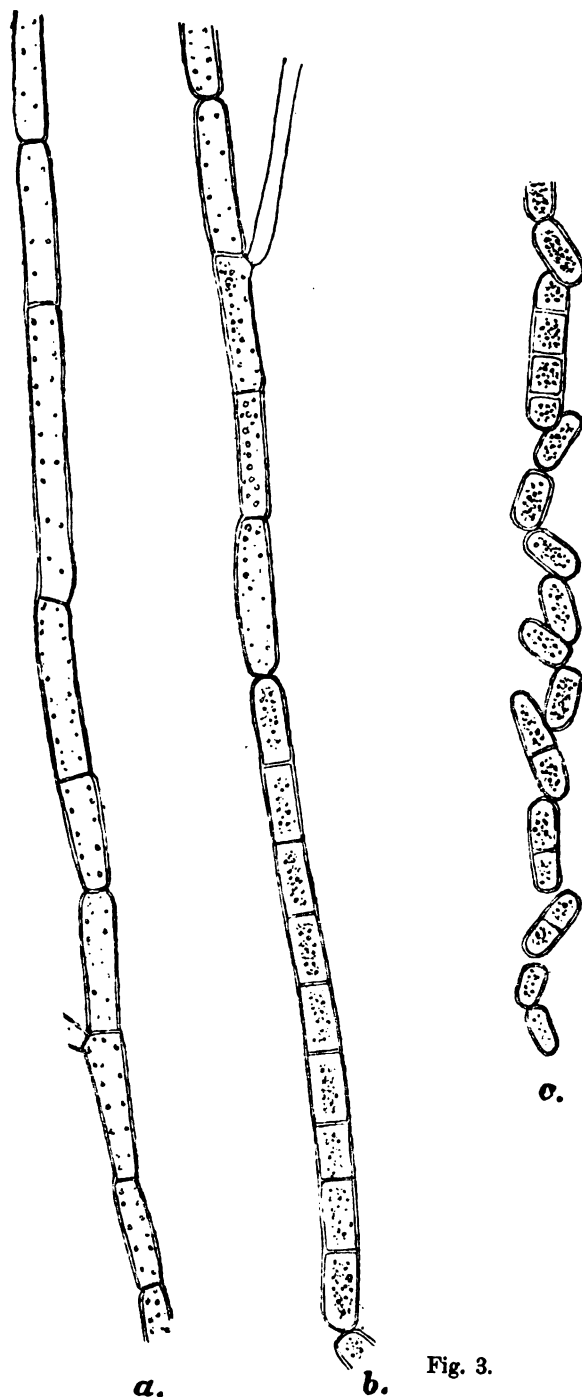


Fig. 3.

Sistierung ihres Längenwachstums auf die oben erwähnte Art in Gonidien zerfallen. Stets Hand in Hand damit geht eine mehr oder weniger totale Aufteilung der Hyphen selbst, um so früher und vollständiger, je jünger das zur Verwendung gekommene Mycel ist. In der Regel setzt die Teilung am freien Hyphenende ein und schreitet basipetal vorwärts, es finden sich indessen nicht selten Ausnahmen hiervon. Der Hyphenzerfall läßt sich besonders schön in Würzelgelatine verfolgen. Hier wird der Zerfall dadurch eingeleitet, daß an verschiedenen Stellen, meist an der Spitze beginnend, die Hyphen an verschiedenen Querwänden eingeschnürt werden¹⁾. Die auf diese Weise abgegrenzten Zellen bzw. Zellreihen runden

1) Fig. 3b.

sich gegen einander ab, und alsbald sieht man in ihrem Inneren neue Querwände auftreten, die sich in regelmäßigen Abständen in verschiedener Zahl, je nach der Größe der primären Hyphenzelle, bilden. Durch Zerfall dieser Teilungsprodukte entstehen sodann die runden kurzovalen bzw. rektangulären Gonidienformen, wie wir sie in Fig. 3c an der Spitze der Hyphen, wo die Teilung schon weiter vorgeschritten ist, beobachten können. Es wäre dies also derjenige Teilungsvorgang, bei dem zuerst eine Anzahl größerer Zellen entsteht, aus denen dann durch interkalar wiederholte Zweiteilungen die schließlich frei werdenden Gonidien sich bilden. Der oben gegebenen Definition dieser letzteren entsprechend muß natürlich auch schon den aus der ersten Teilung hervorgegangenen Zwischenstadien der Charakter von Gonidien zuerkannt werden, die sich von den definitiven Ergebnissen des Zerfalls nur durch ihre Größe und Form unterscheiden lassen.

In Fig. 4a sehen wir einen Mycelzweig in Würze. Die Initien der Teilung machen sich nach Ablauf von 2 Stunden zunächst durch Scheidewandbildung und Einschnürung an der Endzelle be-

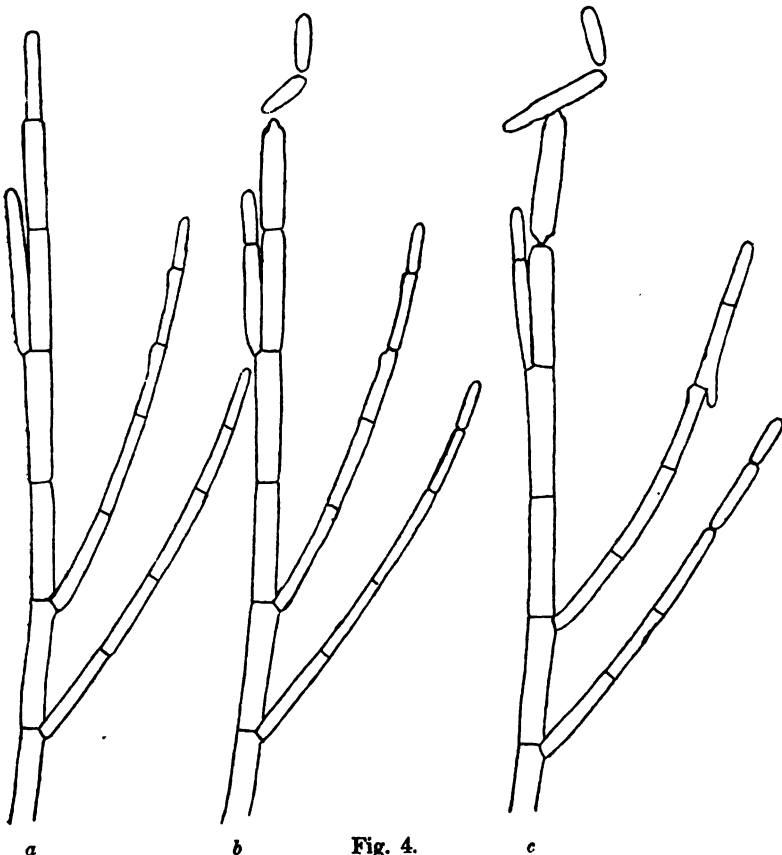


Fig. 4.

merkbar. Die beiden aus diesem Teilungsvorgange resultierenden Tochterzellen haben sich nach weiteren $2\frac{1}{2}$ Stunden vollständig abgeschnürt und offenbar infolge dieses Vorganges Winkelstellung eingenommen (Fig. 4b). Schließlich (Fig. 4c) wird auch die dritte (ursprünglich zweite) Zelle frei u. s. f. Hier findet demnach, allerdings in beschränktem Umfange, die zweite oben erwähnte Bildungsweise von Gonidien statt, indem die aus dem Hyphenverbände frei werdenden Zellen aus einem einzigen Teilungsvorgange resultieren.

(Fortsetzung folgt.)

Referate.

Thiele, R., Zur Verbreitung der Leguminosenbakterien. (Fühling's landw. Zeitg. 1900. Heft 14.)

Auf stark mit Haide bewachsenen Bahndämmen machte Verf. die Beobachtung, daß nach Einsaat von Samen der perennierenden Lupine die Haide nach und nach fast gänzlich verschwand. Es muß daher der betr. Boden die für das Gedeihen der Lupine notwendigen Bakterien enthalten haben.

Ob die Bakterien der perennierenden Lupine von denen der 1-jähr. Lupine abweichen, muß durch Untersuchungen noch festgestellt werden, jedenfalls war an besagter Stelle ein tatsächliches Wachstum der perennierenden Lupine vorhanden, während die 1-jähr. Lupine nur kümmerlich ihr Dasein fristete. Es ist daher anzunehmen, daß die Knöllchenbakterien der 1-jähr. Lupine im Haideboden nicht vorhanden sind. Reinmann (Hildesheim).

Nobbe, F. und Hiltner, L., Wie läßt sich die Wirkung des Nitragins erhöhen? (Landw. Versuchsstationen. Bd. LI. 1899. p. 447—462.)

Die mit Nitragin angestellten Versuche lassen tatsächlich erkennen, daß durch die Verwendung von Reinkulturen zu Impfungen auf freiem Felde die Ernteerträge bei Leguminosen in mehr oder minder hohem Maße gesteigert werden können.

Der Umstand, daß das Nitragin bisweilen auf Feldern versagte, auf welchen rohe Impferde eine Wirkung äußerte, und daß die Reinkulturen in manchen Fällen überhaupt nicht zur Knöllchenbildung Veranlassung gaben, hat vielfach die Anschauung hervorgerufen, daß bei der Nitraginimpfung noch irgend ein unbekanntes Moment im Spiele sei, welches unter Umständen den Erfolg bedinge, und es hat nicht an Meinungsäußerungen gefehlt, die auf eine Verbesserung des Impfmateri als hinzielten.

Durch fortgesetzte künstliche Kultur auf zusagenden Nährböden gelingt es, die Virulenz (Hervorbringung von Knöllchen an den Leguminosenwurzeln) der Bakterien außerordentlich zu erhöhen, sofern ganz bestimmte spezifische Stoffe in diesen Nährböden nicht fehlen, da sonst die Bakterien in diesem Fall eine Abschwächung

ihrer Virulenz erfahren. Fortgesetzt auf Erbsengelatine gezogene Lupinenbakterien werden allmählich für die Erbsenpflanze wirksam, sie vermögen zwar noch in die Leguminosenwurzeln einzudringen, erzeugen aber keine Knöllchen mehr.

Soweit die Wirkung des Nitragsins von der Beschaffenheit des Impfmateri als selbst abhängt, kommt außer der Echtheit und Virulenz der Bakterien hauptsächlich die Menge desselben, welche für eine bestimmte Flächeneinheit Verwendung finden soll, in Betracht.

Bei den Versuchen, ob es nicht zweckmäßiger sei, die Knöllchenbakterien in Nährflüssigkeiten zu züchten, hatte es sich herausgestellt, daß die Bakterien in Nährlösungen ohne Uebertragung sich entschieden länger lebensfähig hielten als auf Gelatine. Die Verff. sind gegenwärtig mit der Prüfung eines neuen Nährbodens beschäftigt und behalten sich vor, über die Brauchbarkeit desselben gelegentlich nähere Mitteilungen darzubieten.

Von anderer Seite wurde auch der Verwendung von Milch zur Herstellung von Bakterienemulsionen Erwähnung gethan; Verff. glauben aber jetzt schon, daß die Milch infolge ihrer Zersetzung den Knöllchenbakterien besonders gefährlich werden kann. Dagegen soll, wie die Verff. selbst festgestellt haben, ein Zusatz des Wurzelextraktes von Glycyrrhiza-Arten zu dem Wasser, mit welchem die Bakterienemulsion hergestellt wird, besonders vorteilhaft wirken.

Unter dem Einfluß konkurrierender Organismen, wenn solche im Boden in größeren Mengen vorhanden sind, werden die Leguminosenbakterien einem Kampfe ausgesetzt, in welchem sie, als der schwächere Teil, unserer thunlichsten Unterstützung bedürfen. Schon die zahlreichen Pilz- und Bakterienarten, welche sich auf der Oberfläche von Lupinen-, Serradella- u. a. Samen häufig vorfinden, können den zur Samenimpfung dienenden Knöllchenbakterien ebenso gefährlich werden, wie den Samen selbst. Es gelang den Verff. beispielsweise nicht mehr, auf geimpften, stark schimmelnden Serradellasamen 10 Tage nach der Impfung noch lebende Knöllchenbakterien nachzuweisen.

Unter Berücksichtigung dieser Verhältnisse wird man also die Methode der Impfung so zu gestalten haben, daß die kritische Periode zwischen der Impfung und dem Eindringen der Bakterien in die Wurzeln möglichst abgekürzt werde.

Reinmann (Hildesheim).

Schierbeck, N. P., Ueber die Variabilität der Milchsäurebakterien mit Bezug auf die Gärungsfähigkeit. (Archiv für Hygiene. Bd. XXXVIII. p. 294.)

S. sucht die Frage zu lösen, ob sich auf experimentellem Wege eine Generation hindurch fortgesetzte Variation der Gärungsfähigkeit der Bakterien hervorrufen lasse oder nicht, und benutzte zu seinen Untersuchungen einen in Kopenhagen aus spontan koagulierter Milch isolierten Milchsäurebacillus. Die Stärke der Gärung wurde durch Titrierung mit $\frac{1}{10}$ n. N. (Indikator: Phenolphthalein) bestimmt, als Temperaturoptimum ließ sich für das

Bakterium rücksichtlich der Geschwindigkeit, mit welcher die Gärung verlief, 35° feststellen. Jede Temperatur führt zu einem ganz bestimmten Verlauf der Gärung, deren Maximum innerhalb einer ganz bestimmten Zeit eintritt und das Optimum für die Geschwindigkeit fällt nicht mit demjenigen für die absolute Höhe der Gärung zusammen. Vorversuche zeigen ferner, daß unter Berücksichtigung von Temperatur und Zeit der Säuregrad einer Reihe geimpfter Milchproben einen verwendbaren Gradmesser für vorübergehende oder andauernde Variation der Gärungsfähigkeit der Bakterien abgibt, und daß Bakterien mit niederem Gärungsgrade ein geringeres Wachstum und dementsprechend auch einen relativ langsameren Verlauf der Gärung aufweisen.

Zu dem Versuche, das Gärungsvermögen der Bakterien abzuändern, wurden Bakterien einer völlig homogenen Kultur verwendet. Ihre Kultivierung auf zuckerfreien Nährböden beeinflusste ihr Gärungsvermögen in keiner Weise. Dagegen führte ihre Züchtung in Milch mit Karbolzusatz eine Herabsetzung der Gärung in gewöhnlicher Milch, welche sich durch eine Reihe von Generationen hindurch konstant erhielt. Die Säurebildung verhält sich also ähnlich wie Farbstoffbildung und Virulenz anderer Bakterien. Besondere Versuche machten es wahrscheinlich, daß die Abnahme der Säurebildung nicht sowohl in der Abschwächung des Bakteriums als vielmehr in der Gegenwart eines gärungshemmenden Faktors im Nährsubstrat gelegen sei. Verschwindet dieser hemmende Faktor, so kehrt auch die abgeschwächte Bakterienform in den ursprünglichen vollwertigen Zustand zurück. Die Bedeutung des Nährsubstrates für die Gärung geht auch daraus hervor, daß die Milch je nach den Jahreszeiten durch dieselben Gärungserreger verschiedengradig vergärt wird. Es handelt sich danach auch bei der Abnahme des Gärungsvermögens der Bakterienzelle nicht um einen experimentell erzeugten Verlust, sondern nur um eine Schwächung einer Zelleigenschaft. Spirig (St. Gallen).

Dunbar und Dreyer, Untersuchungen über das Verhalten der Milchbakterien im Milchthermophor. [Aus dem staatlichen hygienischen Institut in Hamburg.] (Dtsche med. Wchschr. 1900. p. 413.)

Der Milchthermophor ist ein Apparat, welcher die Möglichkeit giebt, aufgekochte Milch längere Zeit, d. i. etwa 10 Stunden bei relativ hohen Temperaturen aufzubewahren; die zur Säuglingsnahrung bestimmten Flaschen können darin mit ihrem Inhalt während der ganzen Nacht warm gehalten werden, so daß die Pflegerin es nicht nötig hat, die Milch jedesmal vor der Verabreichung aufzuwärmen. Die Wirkung des Thermophors beruht auf der Eigenschaft des essigsäuren Natrons, beim Schmelzen große Mengen Wärme aufzunehmen. Das genannte Salz befindet sich innerhalb der Doppelwand eines cylindrischen Gefäßes, des Thermoeimers, welches zur Aufnahme der Milchflasche dient. Der Thermoeimer wird auf 100° C erhitzt, wobei das Salz schmilzt, und wird dann in eine Hülse von schlecht wärmeleitendem Stoff gesetzt. Während

das Salz nun allmählich wieder erstarrt, was bei einer Temperatur von 58° C erfolgt, giebt es seine Wärme nach innen ab. Versuche der Verff. haben in Bestätigung einer älteren Prüfung des Dr. Frickenhaus in Eberfeld erwiesen, daß die Temperatur der in den Apparat gebrachten Milch nach 8 Stunden noch 48—55, nach 10 Stunden noch 40—50° C betrug. Nach 6-monatlicher Benutzung war der Apparat noch ebenso leistungsfähig, wie zur Zeit der ersten Ingebrauchnahme.

Nachdem Flüge gezeigt hat, daß die Milch sehr widerstandsfähige Keime enthält, welche auch durch $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ -ständiges Erhitzen nicht abgetötet werden, war zu befürchten, daß diese Keime sich bei der mäßig warmen Temperatur in Thermophor vermehren und zur Zersetzung der Milch Anlaß geben könnten. Indessen haben die Untersuchungen der Verff., welche in der hier referierten Arbeit in ihren Einzelheiten berichtet sind, diese Befürchtung zerstreut. Es wurden dabei sowohl die sehr resistenten Sporen peptonisierender Bakterien wie auch anaerobe Mikroorganismenarten, welche aus der Milch gezüchtet waren, geprüft. Ferner wurden mannigfache Proben reiner, gemischter und verunreinigter Milch verwendet, zum Teil nach vorausgegangenem Aufkochen oder Peptonisieren, zum Teil ohne vorherige Behandlung. Auch wurde gekochte Milch längere Zeit bei Zimmertemperatur gehalten und dann in den Thermophor gebracht. Die Zählung der Kolonien erfolgte nach Aussaat auf Agarplatten, bei anaeroben Bakterien auf überschichtetem Zuckeragar. Stets enthielt die Milch nach 8—10 Stunden erheblich weniger Keime, als Kontrollproben, die im Eisschrank aufbewahrt waren. (Es dürfte sich dies wohl nach dem Prinzip der fraktionisierten Sterilisierung leicht dadurch erklären, daß die aus den Sporen auskeimenden Bakterien durch die immerhin hohen Temperaturen im Thermophor vernichtet werden.)

Die Verff. stehen demnach nicht an, den Milchthermophor mit Rücksicht auf die Bequemlichkeit, die er für das Pflegepersonal bietet, als eine sehr schätzenswerte Bereicherung für die Technik der künstlichen Säuglingsernährung zu bezeichnen.

K ü b l e r (Berlin).

Lindner, Paul, Eine einfache Methode zur Bestimmung der Vergärbarkeit der verschiedenen Zuckerarten durch Gärungsorganismen. (Wochenschr. für Brauerei. 1900. No. 24. p. 336.)

Nachdem Hansen im Jahre 1888 das Verhalten von ungefähr 40 Hefearten gegenüber Saccharose, Maltose, Laktose und Dextrose genauer untersucht hatte, veröffentlichten 1894 Fischer und Thierfelder eine Studie, in der 12 verschiedene Hefen außer auf die 4 von Hansen angewandten Zuckerarten noch wirken gelassen wurden auf d-Mannose, d-Fruktose, d-Galaktose, d-Talose, l-Mannose, l-Glukose, Sorbose, l-Arabinose, Rhamnose, α -Glukoheptose, α -Glukooktose.

Während Hansen sich für die Gärversuche noch großer Pasteur'scher Kolben bedient und ca. $\frac{3}{4}$ l Zuckerlösung an-

wendet, sehen sich Fischer und Thierfelder wegen der Kostbarkeit der selteneren Zuckerarten genötigt, sparsamer zu arbeiten und bedienen sich eines kleinen, 1 ccm fassenden Kölbchens, das sie zu $\frac{2}{3}$ mit einem Gemisch gleicher Volumina 20-proz. wässriger Zuckerlösung und Hefedekokt füllten.

Das Gärkölbchen trug ein geschliffenes Ableitungsrohr, dessen U-förmiger Teil Barytwasser enthielt. In den Proben, in denen keine Gärung eintrat, bildete sich nur ein ganz schwaches Häutchen von kohlsauerem Baryt; da, wo die Zucker vergoren wurden (die Apparate blieben 3—10 Tage im Brütschrank bei 24—28° C stehen), entstand eine starke Trübung.

Abgesehen von zahlreichen, zumeist im Institut für Gärungsgewerbe ausgeführten Gärversuchen, die das Verhalten der Hefen gegenüber den Bestandteilen der Bierwürze feststellen sollten — Bestimmung der Endvergärungsgrade nach Delbrück — sind schließlich noch zu erwähnen die Versuchsreihen, die Arminius Bau bezüglich der Trehalose und Melbiose und Schukow bezüglich der Raffinose veröffentlicht haben.

Mit der immer höher ansteigenden Zahl von Hefen in unserer Sammlung und der Unmöglichkeit, sie morphologisch der Reihe nach so durchzuarbeiten, um über Identitäten untereinander bestimmt entscheiden zu können, empfand Verf. mit jedem Tag mehr die Lücke, die durch das Fehlen der chemischen Charakteristik der Hefen gegenüber den verschiedenen Zuckerarten noch bestand.

Aber wie das kostbare Material von Zuckerarten auf so viele Hefen verteilen, so daß mit jeder ein Gärversuch durchgeführt werden konnte? Verf. hat folgende einfache Versuchsanstellung gewählt: Die Zuckerarten werden sämtlich fein pulverisiert, so daß man ohne Schwierigkeit aus dem betreffenden Gläschen annähernd gleich große Portionen mit dem Platindraht — vorn etwas breit geklopft — entnehmen kann. Als Gärgefäß diente ein hohler Objektträger, dessen Höhlung mit einem Deckgläschen bedeckt wird, nachdem vorher 1 oder 2 Tropfen sterilen Wassers oder Hefewassers, in dem die betreffende Hefe fein verteilt ist, zugegeben und mit einer kleinen Prise von der betreffenden Zuckerart vermischt worden ist.

Wichtig ist es nun, daß man bei der Abmessung der Hefeflüssigkeit geschickt genug ist und ein zu viel wie ein zu wenig vermeidet. Es darf, wenn das Deckgläschen über die Flüssigkeit geschoben wird, keine Luftblase darunter verbleiben, ebenso darf die Flüssigkeit nicht zu stark unter den Rändern des Deckgläschens hervorquellen, da sonst mit sterilem Filterpapier der Ueberschuß abgesaugt werden muß. Würde dieses unterlassen, dann würde der Vaseline ring, der um das Deckgläschen gezogen werden muß, nicht dicht halten, was von Wichtigkeit ist.

Das so hergestellte Präparat bringt man zweckmäßig in einen Raum von ca. 25° C. Spätestens am nächsten Morgen zeigt sich, ob Gärung eingetreten ist oder nicht. In letzterem Falle erscheint das Präparat durchaus unverändert, nur daß die Hefe als gleichmäßiger Schleier die untere Wand der Höhlung bedeckt.

Um sicher zu gehen, empfiehlt sich hier noch das Anwärmen des Präparates über der Sparflamme. Ist auch nur eine schwache Gärung vorhanden, dann treten zahlreiche Kohlensäurebläschen auf.

Wird die betreffende Zuckerart von der Hefe aber lebhaft vergoren, dann bietet das Präparat ein anderes Bild dar. Die Höhlung wird fast ganz von einer großen Luftblase ausgefüllt, unterhalb deren die Hefe feuchtbreilig daliegt. Das Vaseline hat zum Teil bei der Hebung des Deckgläschens nachgegeben und sich unter dasselbe gezogen. Zwischen Luftblase und Vaseline rand breitet sich die vergorene Flüssigkeit aus. Um den Nachweis zu erbringen, daß die Luftblase in der Hauptsache aus Kohlensäure besteht, braucht man bloß seitlich ein paar Tropfen Kali- oder Natronlauge zufließen lassen. Sofort schrumpft die Blase bis auf einen kleinen Rest zusammen.

Die Gärversuche werden zweckmäßig so durchgeführt, daß man so viel Objekträger vorbereitet, als Zuckerarten zur Verfügung stehen und daß man auf sämtliche Objekträger dieselbe Hefe verteilt. Das Verfahren, bei dem man überall dieselbe Zuckerart auf die Objekträger bringt und auf jede eine andere Hefe, ist viel unzweckmäßiger und nur ausnahmsweise anzuwenden.

Bei dem ersteren Verfahren: Dieselbe Hefe auf Vergärbarkeit der zur Verfügung stehenden Zuckerarten zu prüfen — haben wir eine gegenseitige Kontrolle. Gesetzt, es stellte sich in einem der Objekträger eine kleine Luftblase ein, von der es zweifelhaft sein könnte, ob sie wirklich durch Gärung entstanden oder vielleicht nur das Produkt einer intensiven intramolekularen Atmung: dann brauchen wir bloß nachzusehen, ob sich überall in den schwer oder nicht vergärbaren Zuckerlösungen eine ebensolche Blase vorfindet. Ist dieses nicht der Fall — warum sollte dieselbe Hefe in dem einen hohlen Objekträger stärker atmen als wie in dem anderen? Sollte beim Präparieren eine Luftblase unter dem Deckgläschen verblieben sein und allen Versuchen, sie zu entfernen, sich widersetzt haben, so macht man auf dem Objekträger selbst eine Zeichnung, welche der Größe der Luftblase entspricht. Nimmt man gewöhnliches kalkreiches Leitungswasser zur Hefeverdünnung, dann kann es wohl vorkommen, daß man von der beim Sterilisieren des Wassers sich ausscheidenden Haut aus kohlenauerem Kalk eine größere Anzahl Krystallchen mit auf den Objekträger giebt und daß bei eventueller Säureproduktion durch den Organismus die Kohlensäure aus dem Kalk frei würde.

Welche Vorsichtsmaßregeln sind bezüglich der Sterilität der Lösungen zu treffen? Verf. hat geglaubt, darauf verzichten zu können, auch das Zuckerpulver besonders zu sterilisieren, und zwar aus dem Grunde, weil bei der ganzen Methode die Reaktion innerhalb 15—20 Stunden eintritt. Durch Vermeidung des Aufkochens des Zuckers in der Flüssigkeit ist auch ein Fehler eliminiert, der bei der leichten Zersetzbarkeit resp. Inversion mancher Zuckerarten sonst in Frage käme.

Es ist im höchsten Grade unwahrscheinlich, daß auf den künstlich hergestellten Zuckern soviel lebende Keime sitzen sollen,

daß diese innerhalb 15—20 Stunden eine Massenwirkung erzielen sollten, zumal bei Luftabschluß und in Gegenwart zahlreicher lebender Hefezellen. Indem man also auf die besondere Sterilisation des Zuckers verzichtet, erleichtert man sich ungemein das Arbeiten und es ist bei einiger Uebung eine Stunde ausreichend, um 20 Objektträger fertig herzurichten.

Die Sterilisation der Objektträger und Deckgläschen kann in sehr einfacher Weise vorgenommen werden, indem man sie auf dem Arbeitstisch nebeneinander legt und mit einer Gasflamme über die Flächen streicht.

Die Sterilisation der Vaseline geschieht ebenfalls in der Flamme; man sorgt dafür, daß nicht zu viel Masse in den Haaren des Pinsels sich befindet. Sobald sie geschmolzen ist, spritzt man den Ueberschuß ab und betupft zunächst die 4 Ecken des Deckgläschens; nachher erst zieht man die Seiten des Quadrats mit Vaseline aus.

Das Auftragen des Zuckerpulvers geschieht mit einem Platindraht. Man giebt erst die Hefenemulsion in die Höhlung und dann schüttet man die Prise Zucker auf. Würde man das umgekehrt machen, so würde das Pulver durch die niederfallende Flüssigkeit leicht verstäubt und auf die benachbarten Objektträger geschleudert werden können.

Wie stark ist die Konzentration der Zuckerlösung? Das ist schwer zu sagen und umständlich zu bestimmen. Man wird für gewöhnlich Konzentrationen von 10—20 Proz. vor sich haben. Ob etwas höher oder niedriger, ist übrigens ziemlich gleichgiltig. Nur zu gering darf die Lösung nicht werden, weil die Kohlensäureentwicklung dann zu schwach werden kann, um äußerlich kenntlich zu sein. Auch die Hefemenge darf nicht zu gering bemessen werden.

In welcher Form beschafft man sich die Anstellhefen? Es wurden Impfstrichkulturen auf Würzegeatine von nicht zu hohem Alter, höchstens 3—4 Wochen, benutzt. Hiervon wurde mit dem sterilen Platindraht ein erbsengroßes Stück Hefe entnommen und übergeführt in ca. 10 ccm steriles Leitungs- oder Hefenwasser. Ob man das eine oder andere wählt, macht keinen Unterschied. Nachdem das erbsengroße Stück gleichmäßig verteilt ist, entnimmt man mittels einer kleinen sterilen Pipette ein hinreichendes Quantum, das zum Beschicken der betreffenden Anzahl Objektträger ausreicht.

Handelt es sich darum, eine neu eingetroffene Zuckerart zu prüfen, so verzichtet man darauf, von jeder Hefe sich erst eine Verdünnung zu machen. Man bringt dann einfach steriles Leitungs- oder Hefenwasser in die Höhlung der Objektträger und verrührt darin eine Spur Hefe, die von der Gelatinekultur abgeimpft ist. Bei diesem Verfahren Sorge man dafür, daß die Platindrahtöse nach dem Ausglühen ausgewaschen wird. Wer Hefe im Platindraht verkohlt und verascht, bekommt immer einen Rückstand, der stark alkalisch reagiert. Diese Reaktion ist nicht günstig für die Gärung; außerdem, da es sich hauptsächlich um Pottasche

handelt, führt man in die Gärflüssigkeit wieder gebundene Kohlensäure ein.

Wie für Hefen, ist auch für die Schimmelpilzgruppe die Methode geeignet. Die Schwierigkeit der Anwendung liegt hauptsächlich darin, daß man die Schimmelkulturen oft nicht in gleicher Weise bequem abkratzen kann wie die Hefe.

Mit der Erkenntnis des Verhaltens der Gärorganismen gegenüber den verschiedenen Zuckerarten ist wissenschaftlich ungeheuer viel gewonnen; wenigstens wird eine Einteilung derselben nach chemisch-physiologischen Gesichtspunkten ermöglicht. Daß die Glieder derselben Gruppe auch verwandtschaftlich näher stehen, ist damit nicht gesagt; finden sich doch erfahrungsgemäß oft die morphologisch abweichendsten Species in derselben Gruppe vor.

Ein besonderes Interesse wird aber der Vergleich der in derselben Gärflüssigkeit gleichzeitig vorkommenden Organismen darbieten, z. B. der Formen, die im Lagerbier nebeneinander wuchern können, oder der Organismen, die im Danziger Jochenbier, im Meth in Brennereimaischen, im armenischen Mazun u. s. w. nebeneinander auftreten.

Nicht zuletzt wird die Methode dadurch nutzbringend wirken, daß sie eine schnellere Identifizierung zweier oder mehrerer Gärungsorganismen ermöglicht.

Statt die Organismen selbst einzuführen, wird es auch unter Umständen möglich sein, die Gärwirkung irgend eines Preßsaftes in der oben angeführten Weise zu studieren.

Eine praktische Verwendung wird sich vielleicht für die Methode noch finden lassen bei der Bestimmung, ob in einem Hefegemisch Unterhefe beigemischt ist. Hier würde mit Melibioselösungen zu operieren sein. Reine Oberhefe giebt keine Gärung darin, Unterhefe dagegen zersetzt die Melibiose. — Schließlich sei darauf aufmerksam gemacht, daß diese Methode sehr gut auch für Unterrichtszwecke zu verwerten ist. Autorreferat.

Sitzkoff und Rommel, Vergleichende Untersuchungen über einige sogenannte Amylomyces-Arten. [Mitteilung aus dem botanischen Laboratorium des Instituts für Gärungsgewerbe in Berlin.] (Zeitschrift für Spiritusindustrie. Jahrg. XXIII. No. 44 u. 45. Mit 2 Abbildungen und 1 Lichtdrucktafel.)

Der Bericht befaßt sich zunächst mit der Morphologie des β - und γ -Amylomyces. Die in Abbildung I veranschaulichten verschiedenen Wachstumsformen von diesen beiden Arten (Sporangien- und Gemmenbildungen) lassen wenig charakteristische morphologische Unterschiede erkennen, letztere beschränken sich vielmehr auf geringe Verschiedenheiten in der Färbung und Höhe des Luftmycels.

Nach Beschreibung einiger Verfahren, bei denen in kurzer Zeit nach Keimung der Sporen Gemmen und Sporangien sich bildeten, beschäftigt sich die Mitteilung mit der Keimung der Sporen. Dieselben waren in trockenem Zustande von hell-

brauner Farbe, runder, ovaler und elliptischer Gestalt und zeigten einen ziemlich gleichmäßigen durchsichtigen Inhalt. Ihre Außenseite zeigt zahlreiche feine Striche, die beim Quellen in der Würze verschwinden, und die als Falten angesehen werden. Beim Quellen runden sich die Sporen ab, zeigen bald einen körnigen Inhalt, sind dann hellgrau bis farblos und keimen zu einer sich unregelmäßig verzweigenden Hyphne aus. Auffallend sind die Querwände, welche in unregelmäßigen Zwischenräumen an den jungen Hyphen auftreten. Nach einigen Tagen ist eine große Anzahl sehr zierlicher, fast reifer *Mucor*-Köpfchen vorhanden, die den Enden der Mycelien aufsitzen. Doch ist dies nicht bei allen Mycelien der Fall, sondern es treten auch oft merkwürdige andere Bildungen an ihnen auf, welche die Abbildungen darstellen, und die Verff. näher beschreiben. Das von diesen Bildungen Gesagte trifft in gleicher Weise bei beiden *Mucor*-Arten zu; Sporangien- und Gemmenbildung zeigen auf den ersten Blick nicht die geringsten Unterschiede.

Es wurden daher Messungen vorgenommen, um etwaige Unterschiede in den Größenverhältnissen beider Arten festzustellen.

In den Größenverhältnissen der Sporangien ließen sich Unterschiede der beiden *Amylomyces*-Arten nicht feststellen, wohl aber sind die trockenen Sporen von β -*Amylomyces* durchschnittlich etwas größer als die von γ -*Amylomyces*. In einer Peptonnährlösung waren kleine Unterschiede in Höhe und Farbe des Mycels sichtbar. Weiter sind die Hyphen von β durchschnittlich dicker als die von γ . Die in Tröpfchenkultur mit ungehopfter Würze keimenden Sporen zeigten nach etwa $\frac{1}{2}$ -stündigem Quellen zwischen beiden Arten ähnliche Größenunterschiede wie die trockenen Sporen. Bei weiteren Sporenpräparaten, bei denen auch „Koji“, der *Amylomyces* der belgischen Brennereien, welcher mit β in physiologischer Beziehung übereinstimmt, mit verwendet wurde, wiesen die Messungen bei β und „Koji“ so geringe Unterschiede auf, daß die Annahme der Identität dieser beiden Pilze nicht anzuzweifeln ist, welche auch außerdem die Breite der Hyphen bestätigt. Die Untersuchungen haben also gezeigt, daß zwar morphologische Unterschiede zwischen β - und γ -*Amylomyces* in den Größenverhältnissen vorhanden sind, daß diese aber so gering erscheinen, daß sie zu einer mikroskopischen Unterscheidung beider nicht ausreichen.

Bei Gärversuchen mit verschiedenen Zuckerarten wurden physiologische Unterschiede konstatiert: β vergärt z. B. Rohrzucker und Inulin, γ nicht.

Es wurden weiterhin Versuche (Dauer 3—4 Tage) ausgeführt, um den Einfluß der Schimmelarten auf Stärkekleister der Kartoffeln festzustellen: Dieselben führten in Beziehung auf Wachstum, Verzuckerung und Vergärung zu folgendem Ergebnis: Bei *Amylomyces* α fand das Wachstum nur untergetaucht statt, dabei Gemmenbildung in großer Menge, bei β und γ entwickelte sich an den Wänden des Gefäßes und den Zuleitungsröhren Sporangien tragendes Luftmycel. Die Verzuckerung war bei α nur bis zur Hälfte vorgeschritten, β und γ hatten bedeutend mehr verzuckert,

so daß die sehr dünnflüssig gewordene Lösung sich bei Zusatz von Jod nur noch undeutlich blau färbte. Schließlich hatte hinsichtlich der Vergärung α in 3 Versuchen stets 3,2—3,4 Vol.-Proz. Alkohol gebildet, β und γ nur 1,5 Proz. Es waren also die Schimmelarten β und γ in ihrem Verhalten zum Stärkekleister auffallend gleich.

Brühne (Halle a. S.).

Buchner, Eduard, Zymase aus getöteter Hefe. (Ber. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. XXXIII. 1900. p. 3307—3310.)

Verf. hat schon früher einen Versuch veröffentlicht, wonach sorgfältig getrocknete und sodann getötete Bierhefe beim Mischen mit steriler Zuckerlösung eine beträchtliche Gärwirkung auszuüben vermag. Diese Beobachtung, ein schwerwiegendes Argument zu Gunsten der Annahme eines Gärung erregenden Enzyms in der Hefezelle und gegen die Plasmahypothese ist jetzt durch ausführlichere Versuche bestätigt und das Gärung erregende Agens aus den getöteten Hefezellen mit Glycerinwasser extrahiert worden. Beträchtliche Mengen von Hefe (je 150 g) wurden hierzu in einem großen Vakuumtrockenapparat mit Warmwasserheizung von oben und unten $2\frac{1}{2}$ —4 Stunden bei Temperaturen von 35—100° und 30 mm Druck getrocknet, hierauf durch vielstündiges Erhitzen im Wasserstoffstrom getötet und, nachdem sorgfältige Kontrollversuche den sicheren Nachweis der Sterilität geliefert hatten, mit Sand und Kieselguhr unter Zusatz einer 10-proz., wässrigen Glycerinlösung zerrieben. Die so erhaltene, teigförmige Masse lieferte in der hydraulischen Presse einen Saft, von dem 20 ccm, versetzt mit 8 g Rohrzucker und etwas Thymol, bei 22° innerhalb 68 Stunden bei 5 verschiedenen Versuchen 0,52, 0,74, 0,32, 0,31 und 0,51 Kohlendioxyd entwickelten. Demnach war $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ des gärkräftigen Agens, welches Preßsaft aus frischer Unterhefe enthält, trotz dem Sterilisieren und trotz dem jedenfalls mit Verlusten verknüpfen, darauf folgenden Extrahieren wieder in Lösung erhalten worden. Diese Versuche entscheiden, wie Verf. scheint, völlig gegen die Annahme von lebenden Plasmastückchen als Träger der Gärkraft im Hefepreßsaft, denn lebendes Protoplasma war in der sterilisierten Hefe überhaupt nicht mehr vorhanden.

Ueber Trocknen der Hefe an der Luft, also ohne Zuhilfenahme eines heizbaren Vakuumapparates, liegen auch einige positive Versuche vor. Bei einem derselben wurde die vom Wasser möglichst befreite Hefe 2 Tage in dünnster Schicht bei 20° auf Hürden ausgebreitet, nachher 10 Tage bei 37° getrocknet und endlich 6 Stunden im schwachen Kohlendioxydstrom auf 97° erhitzt. 20 ccm von dem daraus gewonnenen Auszug lieferten, mit Zucker und Thymol versetzt, bei 22° nach 68 Stunden 0,38 Kohlendioxyd. Da indes bei diesem, zeitlich früher als die obigen angestellten Versuche die Sterilität der Hefe nach 6-stündigem Erhitzen auf 97° nicht eigens geprüft wurde, kann er nicht als entscheidend betrachtet werden.

Wiederholt wurde beobachtet, daß durch vorhergehendes, sehr gründliches Trocknen die nachfolgende Sterilisation der Hefe durch trockene Hitze außerordentlich erschwert wird. Während früher

festgestellt worden war, daß an der Luft und hernach im Trockenschrank bei 37° getrocknete Hefe, die nach dieser Operation noch immer etwas Wasser enthält, in mit Watte verschlossenen Kolben durch 6-stündiges Erhitzen auf 100° oder in Glasröhrchen eingeschmolzen durch 6-stündiges Erhitzen auf 95° getötet wird, zeigte sich, daß bei im Vakuum bei höherer Temperatur sehr vollständig getrockneter Hefe unter Umständen 8-stündiges Erhitzen im Wasserstoffstrom auf 100° zur Sterilisation nicht genügt. Diese höhere Widerstandskraft ist wahrscheinlich nicht durch das Erhitzen im Wasserstoffstrom, also bei Luftabwesenheit, veranlaßt, denn ein Kontrollversuch ergab, daß sorgfältig im Vakuum getrocknete Hefe auch nach 8-stündigem Erhitzen auf 100° an der Luft noch lebensfähig sein kann. H. Will (München).

v. Lagerhelm, G., Mykologische Studien. III. Beiträge zur Kenntnis der parasitischen Bakterien und der bakterioiden Pilze. (Meddelanden från Stockholms Högskola. No. 204. Bihang till Svenska. Vet.-Akad. Handlingar. Bd. XXVI. 1900. Afd. III. No. 4. 21 p. und 1 Tafel.)

1. *Sarcinastrum Urosporae* n. g. et n. sp., eine parasitische marine Bakterie.

Es ist noch nicht lange her, daß man annahm, die höheren Pflanzen seien durch ihre sauren Säfte gegen Bakterieninfektion geschützt. Jetzt kennt man eine ganze Reihe von Schizomycetenkrankheiten höherer Gewächse. Bei Algen hat Schmitz die knöllchenartigen Auswüchse von *Cystoclonium*, *Chondrus*, *Delesseria* durch Spaltpilze verursacht gefunden. Die Gallen an marinen Phäophyceen und Florideen werden durch Tiere oder andere Algen oder echte Pilze (*Olpidium* etc.) verursacht. An marinen Chlorophyceen scheinen Gallen selten zu sein; bei *Cladophora gracilis* werden sie durch *Gymnococcus Cladophorae* Bruyne verursacht. Grüne Meeresalgen mit Bakterienzellen waren bisher noch nicht bekannt. Verf. fand solche bei *Urospora mirabilis* an der biologischen Station in Dröbak, Norwegen. Die cylindrischen vegetativen Zellen der *Urospora* sind mit einer festen Membran versehen, deren Dicke (an konserviertem Material) zwischen 3 und 8 μ wechselt. Sie besteht aus einer äußeren dünnen Haut, die alle Zellen des Fadens scheidenartig umgibt, und einer inneren, geschichteten dicken Membran, die jede einzelne Zelle umgibt und aus einem Gemisch von Cellulose mit einer Pektinverbindung besteht. Die Zellen enthalten mehrere Zellkerne und ein wandständiges Chromatophor in Form einer durchbrochenen Platte oder mehrerer bandförmiger, durch dünne Fäden zusammenhängender Scheiben, das mehrere große Pyrenoiden enthält. Die Propagationszellen der Bakterie stellen winzige Kokken dar, die an Größe zunehmen, ehe sie zur Stabform auskeimen. Sie scheiden ein Enzym aus, das die äußere *Urospora*-Haut auflöst. Die jüngsten Kolonien an der *Urospora* bestehen aus einer Anzahl gleichgroßer Stäbe, die, einander parallel, dicht gedrängt zu einer runden gebogenen Scheibe angeordnet sind, welche mit der konkaven Seite

der Nährzelle zugekehrt ist. Durch fortgesetzte Längsspaltung der Stäbe wird die Kolonie halbkugelig, später nimmt sie die Form einer Hohlkugel an und ihre Zellen vermehren sich auch durch Querteilung, deren Resultat wieder Kokken sind. Die gallertige Substanz, welche die Kokken umgiebt, löst sich zuletzt auf und die Kokken können nur durch Wasserströmung fortgetrieben werden. Anilinfarben wie Eosin werden von dem Parasiten nur wenig gespeichert. Die parasitische Natur der Bakterie wird schon dadurch wahrscheinlich, daß sie nur an den *Urospora*-Fäden wächst, nicht aber an anderen Algen des gleichen Standortes, wie *Hormiscia flacca*, und noch mehr dadurch, daß sie ein *Cecidium* bildet und die Nährzelle schließlich tötet. Die innere pektin- und cellulosehaltige Membran bleibt lange anscheinend unverändert. In der Wirkung auf die Wirtszellen zeigt der Parasit große Ähnlichkeit mit den Bakterien, die Schmitz bei *Cordiaea lacinata* beobachtete und mit denen, die Brand als Urheber von *Chantransia*-Zellen beobachtete, doch sitzen die *Urospora*-Bakterien nie im Inneren der Zelle, die sie durch Ausscheidung eines Enzyms töten, nachdem sie ihr nach ihrer Hypertrophierung die Nahrung entnommen haben. Die Stäbe mit longitudinaler Teilung und der Uebergang derselben in sich als solche teilende Kokken charakterisieren den *Urospora*-Parasiten, den Verf. *Sarcinastrum Urosporae* benennt. Die letztere Eigenschaft zeigen nur wenig echte Bakterien, wie *Bacterium allantoides* (L. Klein) Migula und *Bacterium Fraenkelii* Hashim. Noch viel seltener findet sich sonst Längsteilung von Stäben (bei der, wahrscheinlich zu den Myxobakteriaceen gehörigen *Pasteuria ramosa* Metschn., die in der Leibeshöhle von *Daphnia* parasitiert).

Verf. ist der Ueberzeugung, daß die Bakterien polyphyletischen Ursprungs sind. Die Trichobakterineen sind nach seiner Ansicht als echt saprophytische Formen den Myxophyceen einzureihen; *Beggiatoa* bei *Oscillatoria*, *Crenothrix* bei *Chamaesiphon*, *Cladothrix* bei *Plectonema*, *Streblotrichia* bei *Amphithrix*, *Thiothrix* bei *Lyngbya* etc. Die echten Bakterien, Haplobakterineen im Sinn von Schmidt und Weis haben andere verwandtschaftliche Beziehungen. Ihre vermutete Verwandtschaft mit Flagellaten scheint Verf. problematisch. Vielleicht sind sie den Ascomyceten als degenerierte Reihe anzuschließen, mit Uebergangsformen wie *Schizocaccharomyces* und *Actinomyces*.

Wegen einer gewissen Ähnlichkeit mit *Sarcina* und *Sarcinoglobulus* könnte *Sarcinastrum* in die Nähe dieser Gattungen gestellt werden. Verf. glaubt jedoch, daß es, obwohl nicht fadenförmig, den Trichobakterineen einzureihen, oder — wenn man diese als saprophytische Myxophyceen betrachtet, in die Nähe von *Hyella* und *Pleurocopsa* (*Pleurocopsa amethystea* Rosenv. auf *Rhizoclonium riparium*) unter den Chamä-siphoneen zu stellen ist; *Crenothrix* und *Phragmidiothrix* würde ihm von Trichobakterineen am nächsten stehen.

2. Ueber einen bakterienähnlichen Pilz, der *Tylenchus Agrostidis* (Steinb.) Bact. tötet.

An Gräsern finden sich mehrere Anguillulidengallen, so an den Wurzeln die von *Tylenchus Hordei*, *Heterodera radicicola*, an den Blättern die von *Tylenchus graminis*, in den Fruchtknoten die von *Tylenchus scandens*, *T. Phaluridis*, *T. Agrostidis* etc. In Skandinavien sind von ihnen *T. Hordei*, *T. scandens* und der Urheber der Stockkrankheit des Roggens und anderer Gräser, *T. devastator* beobachtet worden. *T. graminis* ist auf *Festuca rubra* verbreitet. Ein *Aecidium*, das rotviolette Anschwellungen am gerollten Rand an der Blattbasis von *Agrostis alba* bildet, wurde von Forsberg gefunden. Verf. fand bei *Poa alpina* an kränklichgelben Pflanzen an Stelle der Frucht gelbbraune, gallenartige Gebilde ähnlich denen des Weizengichtkornes, durch *T. Agrostidis* verursacht. In den weitaus meisten Fällen konnten aber keine Nematoden gefunden werden, sondern die Galle war von einer homogenen, hornartigen, goldgelben Masse ausgefüllt, die aus einem bakterienähnlichen Organismus bestand. Derselbe hatte ohne Zweifel die Nematoden getötet und bis auf Hautreste völlig aufgezehrt. Der Parasit besteht aus unzähligen, kleinen dendritisch verzweigten Gebilden, die wegen der echten Verzweigung zu den Pilzen, vielleicht zu *Actinomyces* im Sinne Sandoval's gehören dürfte. Der gelbe Farbstoff gehört vermutlich zu den Lipochromen. Eine Kultur des Pilzes mißlang bis jetzt. Vielleicht gelingt es später, mit seiner Hilfe die Urheber des Gicht- oder Radekorns des Weizens unschädlich zu machen.

Ludwig (Greiz).

Loew, Oscar, *Physiological studies of Connecticut leaf tobacco*. (U. S. Department of Agriculture. Report No. 65.)

In der Einleitung bespricht Verf. die verschiedenen Faktoren, welche das Wachstum der Tabakpflanze beeinflussen, und weist darauf hin, daß die junge Pflanze schon frühzeitig auf sich selbst angewiesen ist, da die kleinen Samen wenig Reservematerial enthalten. Sie müssen daher sorgfältig überwacht werden, um Pilzkrankheiten fernzuhalten.

Unter der Rubrik „Inhalt des Tabaksblattes“ bestimmt Verf. den Säuregehalt von verschiedenen Teilen der Pflanze, indem er auf die übliche Weise mittels $\frac{n}{10}$ Sodalösung titriert und das Resultat als freie Aepfelsäure angiebt, so findet er für

kleine Wurzeln	0,033	Proz.
Mark	0,052	„
Rinde	0,092	„
Hauptrippe des Blattes (abends)	0,105	„
„ „ „	0,098	„
„ „ „ (morgens)	0,138	„
Lamina des reifen Blattes	0,394	„
„ „ „	0,277	„
u. s. w.		

Hieraus ergibt sich, daß die kleinen Wurzeln und das Mark am wenigsten Säure enthalten, ferner daß die Blattspreite mehr als die Blattrippen enthält, und ältere Blätter mehr als jüngere.

Der Reifungsprozeß für die normale Pflanze besteht in der Fruchtbildung, für das Blatt einer geköpften und gegezigten Pflanze bedeutet er aber das Ansammeln von organischen Substanzen, die naturgemäß in die Samen gewandert wären, in den Blättern; er ist also nicht ein physiologischer, sondern ein pathologischer Prozeß. Durch die Ansammlung von Nikotin, oxydierenden Enzymen und Säuren wird die normale grüne Farbe der Blätter endlich gelblich, das reife Blatt enthält pro 100 qcm 0,164 g in kochendem Wasser lösliche organische Substanz, während das junge Blatt bloß 0,066 g enthält.

Verf. fand Diastase und ein proteolytisches Enzym in den Tabaksblättern; das letztere greift jedoch bloß gelöstes Albumin an. Er stellt ferner fest, daß die Tabaksoxydase und Peroxydase weder zu den gerinnbaren Albuminen noch zu den Nucleoproteiden gehören, sondern daß sie als Albumosen aufzufassen sind.

Es folgen hierauf Auseinandersetzungen über das Verhalten von oxydierenden Enzymen zu giftigen Substanzen und die Temperatur, bei welcher oxydierende Enzyme getötet werden.

Verf. fand, daß der unfiltrierte Tabakssaft sehr energisch Wasserstoffsperoxyd zersetzt mit Sauerstoffabgabe. Nach kurzer Einleitung kommt er zu folgenden Schlüssen:

1) Daß ein separates Enzym den Sauerstoff durch Zersetzung von Wasserstoffsperoxyd entwickelt.

2) Dieses Enzym nennt er Katalase, und giebt es eine α -Katalase, unlöslich in Wasser, und β -Katalase, in Wasser löslich.

3) Das Enzym wird bei 72–75° C getötet. Es ist ein oxydierendes Enzym, da es leicht Hydroquinone aus Quinonen bildet. Es unterscheidet sich von Oxydase und Peroxydase dadurch, daß es Säuretinktur nicht blau färbt.

4) Die unlösliche Modifikation ist in schwach alkalischen Flüssigkeiten löslich.

5) Im Reifungsprozeß des Tabaks findet er, daß die lösliche Form, wahrscheinlich auf Kosten der unlöslichen im Zunehmen begriffen ist.

Es werden darauf besprochen — die Mosaikkrankheit der Blätter und des längeren der Trocknungsprozeß. Daraus kann nur entnommen werden, daß der Säuregehalt beim Trockenprozeß langsam abnimmt. Die verschiedenen darauf folgenden Kapitel handeln von einzelnen Details, die sich auf den Trockenprozeß beziehen, und muß deswegen auf das Original verwiesen werden.

Am Ende bespricht Verf. noch einmal die Bakterienfrage und beweist, wie schon vor einem Jahre, daß Bakterien bei der Temperatur der Haufen nicht wachsen können, und auch faktisch nicht vorkommen.

Er findet ferner, daß salpetrige Säure in der Form von Nitriten in dem Handelstabak vorhanden sind, während sie in frischen Blättern nicht vorkommt. Diese wird während des Schwitzprozesses formiert, indem einige der Nitrate reduziert werden, mit Ammon als letztes Produkt.

Am Schlusse giebt Loew noch einige Punkte an, welche der

weiteren Lösung harren. Pilzkrankheiten in den Scheunen, die Regulierung der Temperatur und der Feuchtigkeit während des Schwitzprozesses lassen sich leicht kontrollieren. Das Aroma des Blattes ist jedoch größtenteils von Witterungsverhältnissen abhängig, doch wird es vielleicht möglich sein, durch sorgfältige Zuchtwahl Tabaksrassen zu ziehen, welche die dem Aroma schädlichen Substanzen selbst unter ungünstigen Verhältnissen nicht bilden werden.

v. Schrenk (St. Louis).

Algner-Abafi, L. v., *Acherontia atropos* L. IV. Schädlichkeit. (Illustr. Zeitschr. für Entomologie. Bd. V. 1900. p. 36—38.)

Während die Raupe des Totenkopfschwärmers nur im wärmeren Europa, wo sie häufiger auftritt, den Kartoffeln schädlich werden kann, ist die Beeinträchtigung der Bienenzucht durch den Falter auch bei uns erheblicher. Abgesehen von den Diebstählen an Honig — es wird berichtet, daß der Darm eines dabei überraschten Schmetterlings einen Kaffeelöffel voll davon enthielt — verursacht das Eindringen desselben in die Stöcke eine heftige Beunruhigung der Bienen, denen es nicht immer gelingt, den Räuber zu töten. Zur Abwehr verbarrikadieren sie öfters das Flugloch durch Wachs, wobei erbsengroße Oeffnungen wohl den Insassen, nicht aber dem Schwärmer den Durchgang gestatten. Das Eingreifen des Imkers findet am besten in der Abenddämmerung durch Abfangen der Schwärmer statt, die den Stock verlassend einen Augenblick halb betäubt vor dem Flugloch sitzen bleiben.

Arnold Jacobi (Berlin).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. ARTHUR WÜRZBURG,
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

- Dubois, R.,** Sur le pouvoir éclairant et le pouvoir photochimique comparés de bouillons liquides de photobactéries. Photographies obtenues par les photobactériacées. Lampe vivante. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1901. No. 6. p. 133—134.)
- Lister, A.,** On the cultivation of mycetoza from spores. (Journ. of botany British and foreign. 1901. No. 457. p. 5—8.)
- Paul, Th.,** Die Anwendung des W. Ostwald'schen Thermoregulators für Brütschränke. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXIX. 1901. No. 4. p. 129—133.)
- Wilde, M.,** Bemerkung zu dem Artikel von Prof. Paul: „Die Anwendung des Sandes zum schnellen Filtrieren des Nährgars“. (Münch. med. Wchschr. 1901. No. 6. p. 227.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

- Bogdanow, E. A.,** Zur Biologie der Coprophaga. (Allg. Ztschr. f. Entomol. 1901. No. 3. p. 35—41.)
- Bokorny, Th.,** Das Verhalten der Eiweißstoffe in den keimenden Samen. Trypsische Fermente in denselben. (Allg. Brauer- u. Hopfen-Ztg. 1900. No. 290. p. 3529.)

- Boveri, Th.**, Zellenstudien. Heft 4. Ueber die Natur der Centrosomen. Mit 8 lith. Taf. u. 3 Textfig. gr. 8°. III, 220 p. Jena (G. Fischer) 1901. 15 M.
- Bretscher, K.**, Südschweizerische Oligochäten. (Rev. suisse zool. T. VIII. 1900. Fasc. 3. p. 435—458.)
- Buckton, G. B.**, Description of a new species of *Psylla* (obsoleta n. sp.) destructive to forest trees. (Ind. museum notes. Vol. V. 1900. No. 2. p. 35—36.)
- Hanriot**, Sur la réversibilité des actions diastatiques. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1901. No. 4. p. 70—72.)
- Hansen, E. Ch.**, Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques. (Compte rendu d. travaux du laborat. de Carlsberg. Vol. V. 1900. Livr. 1. p. 1—38.)
- Heinselmann, G.**, Ueber die Ursachen der in dieser Campagne so häufig aufgetretenen schlechten Vergärungen und mangelhaften Alkoholausbeuten in den Brennerien. (Ztschr. f. Spiritusindustrie. 1900. No. 50. p. 458—459.)
- Henri, V.**, Influence de la quantité de saccharose sur la vitesse d'inversion par le ferment inversif de la levure de bière. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1901. No. 4. p. 73—74.)
- Hertwig, R.**, Ueber physiologische Degeneration bei Protozoen. (Sitzber. d. Ges. f. Morphol. u. Physiol. in München. 1900. Heft 1. p. 88—94.)
- Höfflich, K.**, Kultur und Entwicklungsgeschichte der *Cladotrix dichotoma* Cohn. (Oesterr. Mtsschr. f. Tierheilk. 1901. No. 1, 2. p. 4—23, 49—64.)
- Issaew, W.**, Kleine Mitteilungen über Enzyme. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. 1900. No. 52. p. 796—799.)
- Jaap, O.**, Verzeichnis der bei Triglitz in der Prignitz beobachteten Ustilagineen, Uredineen und Erysipheen. (Abhandl. d. botan. Vereins d. Prov. Brandenburg. 1900. p. 261—270.)
- Kohnstamm, Ph.**, Amylytische, glykosidspaltende, proteolytische und Cellulose lösende Fermente in holzbewohnenden Pilzen. (Beihefte z. Botan. Centralbl. Bd. X. 1901. Heft 2. p. 90—121.)
- Kowalewski, M.**, Etudes helminthologiques. VI. Sur quatre espèces du genre *Trichosoma* Rud. (Anz. d. Akad. d. Wissensch. in Krakau. 1900. p. 183—186.)
- Künckel d'Hercoulais, J.**, Les grands acridiens migrateurs de l'ancien et du nouveau monde, du genre *Schistocerca*, et leurs changements de coloration suivant les âges et les saisons; rôle physiologique des pigments. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXI. 1900. No. 23. p. 958—960.)
- Lewis, B. T.**, A contribution to the life history of *Ixodes redivivus* L. (Journ. of the Quek. micr. club. Vol. VII. 1900. No. 47. p. 381—386.)
- Lindet**, Sur l'action saccharifiante des germes de blé et sur l'emploi de ces germes en distillerie. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXII. 1901. No. 5. p. 261—263.)
- Magnus, P.**, Notiz über das Auftreten und die Verbreitung der *Urophlyctis Kriegeriana* P. Magn. (Oesterr. botan. Ztschr. 1900. No. 12. p. 448.)
- Massee, G.**, On the origin of the Basidiomycetes. (Journ. of the Linnean soc. Botany. 1900. No. 240.)
- Maupas, E.**, Modes et formes de reproduction des nématodes. (Arch. de zool. expérim. T. VIII. 1900. No. 3. p. 463—496.)
- Meerwarth, H.**, Die Randstruktur des letzten Hinterleibssegments von *Aspidiotus perniciosus* Comst. (Botan. Museum, Abt. f. Pflanzenschutz, zu Hamburg. II. 1899/1900. Hamburg 1900. p. 1—15.)
- Nobécourt, P. et Merklen, P.**, Présence d'un ferment dédoublant le salol dans les organes de l'homme et de divers animaux ainsi que dans le lait de femme et de chienne. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1901. No. 6. p. 148—149.)
- v. Osten-Sacken, C. B.**, Notice on the synonymy of *Anopheles maculipennis*. (Entomol. monthly magaz. 1900. Dec. p. 281—283.)
- Reh, L.**, Ueber *Aspidiotus ostreaeformis* Curt. und verwandte Formen. (Botan. Museum, Abt. f. Pflanzenschutz, zu Hamburg. II. 1899/1900. Hamburg 1900. p. 1—12.)
- Rothschild, W.**, Notes on *Pulex avium* Taschb. (Novit. zool. Vol. VII. 1900. No. 3. p. 539—543.)
- Schaudinn, F.**, Typus: Protozoa (Urtiere). Klasse: Sporozoa (Sporentiere). Unterklasse: Haemosporidia (Blutsporentiere). 2 Bl. à 93 × 120 cm. Farbdr. Mit Text. (R. Leuckart's Samml. zoolog. Wandtaf. üb. wirbellose Tiere, fortgesetzt von C. Ch u n. Taf. I. 102.) gr. 4°. 4 p. Cassel (Th. G. Fisher & Co.) 1901. 12 M.

- Spica, P.**, Sulla materia colorante prodotta dal *Micrococcus prodigosus*: rivendicazione di priorità per Bartolomeo Bizio. (Atti d. r. istit. veneto di scienze, lettere ed arti Ser. 8. T. II. 1899/1900. Disp. 10.)
- v. Tappeiner**, Ueber die Wirkung einiger Gifte auf den Leberegel (*Distomum hepaticum*). (Sitzber. d. Ges. f. Morphol. u. Physiol. in München. 1900. Heft 1. p. 97—105.)
- Terburgh**, Over de vindplaats van Anopheleslarven. (Geneesk. Tijdschr. v. Nederlandsch-Indië. 1900. Deel 40. Aflev. 6. p. 732—736.)
- Trotter, A.**, I micromiceti delle galle. (Atti d. r. istit. veneto di scienze, lettere ed arti. Anno acad. 1899/1900. T. LIX. Ser. 9. T. II. Disp. 9.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur. Luft und Wasser.

- Calvino, V. E. M.**, Origine e distribuzione dei germi patogeni nelle acque del porto di Cagliari. (Riforma med. 1901. No. 23. p. 267—269.)
- Jørgensen, E.**, Protophyten und Protozoen im Plankton aus der norwegischen Westküste. (Bergens Mus. Aarb. f. 1899. 1900. No. 6. 95 p. u. LXXXIII p. Tab.)
- Lauterborn, E.**, Die „sapropelische“ Lebewelt. (Zool. Anz. 1901. No. 635. p. 50—55.)

Boden.

- Remy, Th.**, Der augenblickliche Stand der Erdbakteriologie und unsere Aufgaben — ein Arbeitsprogramm. (Landbote. 1000. No. 10. p. 964—965.)

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

- Hars, C. O.**, Ueber einige Schimmelpilze auf Nahrungs- und Genußmitteln. (Sitzber. d. Ges. f. Morphol. u. Physiol. in München. 1900. Heft 1. p. 36—38.)
- Pitoy, H. F.**, Boissons fermentées sans alcool et procédé de fabrication. Brevet franç. No. 301280 du 15 juin 1900. (Journ. de la distillerie franç. 1901. No. 868. p. 36—38.)

Milch, Molkerei.

- Burri, R.**, Das „Tyrogen“ und die Reifungsfrage beim Emmenthalerkäse. (Schweiz. landwirtsch. Centralbl. 1901. Heft 1. p. 5—21.)
- Chodat, R. et Hofman-Bang, N. O.**, Les bactéries lactiques et leur importance dans la maturation du fromage. (Annal. de l'Institut. Pasteur. 1901. No. 1. p. 36—48.)

Wein, Weinbereitung.

- Coudon, H. et Pacottet, P.**, Le Botrytis cinerea, le tannin et la coloration des vins rouges. (Rev. de viticult. 1901. No. 373. p. 145—147.)
- Sachisthal, K.**, Die Krankheiten des Apfelweines und seine Verfälschung. (Obstgarten. 1901. No. 1. p. 7—9.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

- Clowes and Houston**, Bacterial treatment of crude sewage. Third report of experimental intermittent treatment of London crude sewage in the Coke-Beds at Barking and Crossness. London 1901. 25 sh.
- Gorini, C.**, Einige Bemerkungen zu Abba's Arbeit: „Weiterer behufs Desinfektion von Wohnräumen mit dem Flügge'schen und dem Schering'schen formogenen Apparat ausgeführte Versuche.“ (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXIX. 1901. No. 2. p. 62.)
- Maercker, M.**, Nochmals „das Sanatol in seiner Wirksamkeit und seinem Wert für die Konservierung des Stalldüngers“. (Illustr. landwirtsch. Ztg. 1901. No. 6. p. 45—46.)
- Mayer, E. u. Wolpert, H.**, Beiträge zur Wohnungsdesinfektion durch Formaldehyd. [Vorl. Mitteil.] (Hygien. Rundschau. 1901. No. 4. p. 153—158.)
- Santschi, F.**, Contribution à l'hygiène des habitations; recherches sur les microorganismes des sièges des cabinets d'aisance. [Thèse.] Lausanne 1900.

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

- Aderhold**, Vom Wurzelkropf der Obstbäume. (Proskauer Obstbau-Ztg. 1900. Dez. p. 184—186.)
- de Astis, G.**, Istruzione pratica sulla fillossera della vite ad uso dei viticoltori pugliesi. 8°. 23 p. Bari (Gius. Laterza e figli) 1900.
- Chiffot, J.**, Malattia del Cyclamen persicum. (Bullett. d. r. soc. toscana di orticolt. 1900. Ser. 3. Vol. V. No. 2.)
- Compte rendu des travaux du service du phylloxéra (Ministère de l'Agriculture). Années 1898/99. gr. 8°. 254 p. Paris (Impr. nation) 1900.
- Consorzio antifillosserico bresciano: relazione del 1899. 16°. 10 p. Brescia (Tip. La Sentinella) 1900.
- Danesi, L.**, Rapporto intorno al vivaio di osservazione alle tremite e alle esperienze di disinfezione delle piante. 4°. 15 p. Roma (Tip. della Camera dei Deputati) 1900.
- Dantoni, S.**, Specifico per guarire e preservare gli alberi d'olivo, arancio, limoni e gli arbusti di vite dallo attacco della risinifugo, della pania fungosa dei primi e della crittogama, della fillossera, dell' oidio, dell' antracnosi, della clorosi e della peronospora delle viti. 16°. 41 p. Messina (Tip. Filomena) 1900. 3 £.
- Delacroix, G.**, Sur la maladie des oeillets produite par le Fusarium Dianthi Prill. et Delac. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXI. 1900. No. 23. p. 961—963.)
- Fernald, H. T.**, On the Marguerite fly. (Proceed. of the 12. annual meet. of the assoc. of econom. entomol. U. S. Departm. of agricult. Divis. of entomol. N. S. Bullet. No. 26. Washington 1900. p. 34—35.)
- Fischer, E.**, Die Rostkrankheiten der forstlich wichtigsten Nadelhölzer nach dem heutigen Stande unserer Kenntnisse. (Schweiz. Ztschr. f. Forstwesen. 1900. No. 8/9—11. p. 189—193, 233—236, 274—279.)
- Fletcher, J.**, Notes from Canada. (Proceed. of the 12. annual meet. of the assoc. of econom. entomol. U. S. Departm. of agricult. Divis. of entomol. N. S. Bullet. No. 26. Washington 1900. p. 94—96.)
- Giard, A.**, Sur un cas singulier de ravages causés par *Lyctus unipunctatus* Herbst (*L. canaliculatus* F.) [Col.] (Bullet. de la soc. entomol. de France. 1900. No. 17. p. 332—333.)
- Guthke, E.**, Die Behandlung der Kartoffeln mit der Bordelaiser Brühe. (Hannoversche land- u. forstwirtschaftl. Ztg. 1900. No. 49. p. 882—884.)
- Howard, L. O.**, Beneficial work of *Hyperaspis signata*. (Proceed. of the 12. annual meet. of the assoc. of econom. entomol. U. S. Departm. of agricult. Divis. of entomol. N. S. Bullet. No. 26. Washington 1900. p. 17—18.)
- v. Jaczewski, A.**, Eine neue Pilzkrankheit auf *Caragana arborescens*. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. 1900. Heft 6. p. 340—343.)
- Johnson, W. G.**, *Aphelinus fuscipennis* an important parasite upon the San Jose scale in Eastern United States. (Proceed. of the 12. annual meet. of the assoc. of econom. entomol. U. S. Departm. of agricult. Divis. of entomol. N. S. Bullet. No. 26. Washington 1900. p. 73—75.)
- Johnson, W. G.**, Notes on insects of economic importance for 1900. (Proceed. of the 12. annual meet. of the assoc. of econom. entomol. U. S. Departm. of agricult. Divis. of entomol. N. S. Bullet. No. 26. Washington 1900. p. 80—84.)
- Kittlaus, K.**, Mittel gegen Gerstenbrand und Schutz des Getreides gegen Stein- und Flugbrand. (Deutsche landwirtschaftl. Presse. 1900. No. 100. p. 1200.)
- Kochs, J.**, Beiträge zur Einwirkung der Schildläuse auf das Pflanzengewebe. (Botan. Museum, Abt. f. Pflanzenschutz, zu Hamburg. II. 1899/1900. Hamburg 1900. p. 1—16.)
- Kühlmann, E.**, Erfahrungen bei der Bekämpfung des Aeschers (*Oidium Tuckeri*). (Weinlaube. 1900. No. 48, 49. p. 571—572. 582—583.)
- Loehhead, W.**, Injurious insects of the orchard, garden and farm for the season of 1899. (30. ann. rep. of the entomol. soc. of Ontario 1899. 1900. p. 66—71.)
- Montemartini, L. e Farneti, L.**, Intorno alla malattia della vite nel Caucaso (*Phyalospora Woronini* n. sp.) (Estr. d. Atti d. R. Istit. botan. d. Univers. di Pavia. N. S. Vol. VII. 1900.) 4°. 14 p.
- Munro, A.**, The locust plague and its suppression. XVI, 365 p. London (Murray) 1900.

- Noack, F.**, Pilzkrankheiten der Orangenbäume in Brasilien. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. 1900. Heft 6. p. 321—335.)
- Quaintance, A. L.**, Observations on *Diabrotica 12-punctata* Oliv. (Proceed. of the 12. annual meet. of the assoc. of econom. entomol. U. S. Departm. of agricult. Divis. of entomol. N. S. Bullet. No. 26. Washington 1900. p. 35—41.)
- Ritzema Bos, J.**, De San José schildluis en hed verbod van invoer in Europeesche landen van gewassen en vruchten van Amerikaanschen oorsprong. (Tijdschr. over plantenziekten. 1900. Aflev. 5/6. p. 152—159.)
- Scott, W. M.**, Notes on Coccidae of Georgia. (Proceed. of the 12. annual meet. of the assoc. of econom. entomol. U. S. Departm. of agricult. Divis. of entomol. N. S. Bullet. No. 26. Washington 1900. p. 49—54.)
- Staes, G.**, Het wit van de schorseneel. (*Cystopus Tragopogonis* Schroet.) (Tijdschr. over plantenziekten. 1900. Aflev. 3/4. p. 92—97.)
- Stone, G. E.**, Potato and apple scab. (Commonwealth of Massachusetts. State Board of Agricult. Nature leaflet. 1900. No. 7.) 8°. 4 p.
- v. Tubeuf, C.**, Studien über die Schüttekrankheit der Kiefer. Kleinere Mitteilungen. (Arb. a. d. biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtsch. am kais. Gesundh.-A. Bd. II. Heft 1.) Lex.-8°. IV. 178 p. Mit 7 (6 farb.) Taf. Berlin (Paul Parey. — Julius Springer) 1900. 10 M.
- Webster, F. M.**, Insects of the year in Ohio. (Proceed. of the 12. annual meet. of the assoc. of econom. entomol. U. S. Departm. of agricult. Divis. of entomol. N. S. Bullet. No. 26. Washington 1900. p. 84—90.)
- Weed, C. M. and Fiske, W. F.**, The relations of *Pimpla Conquistator* to *Clisiocampa americana*. (Proceed. of the 12. annual meet. of the assoc. of econom. entomol. U. S. Departm. of agricult. Divis. of entomol. N. S. Bullet. No. 26. Washington 1900. p. 33—34.)
- Weiß, Tierische** Getreideschädlinge. (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1901. Heft 10, 12. p. 76—79, 90—91.)
- Wöhl, E.**, Befall durch *Psilura monacha* L. (Illustr. Ztschr. f. Entomol. 1900. No. 23. p. 364—366.)
- Woodworth, C. W.**, Notes from California. (Proceed. of the 12. annual meet. of the assoc. of econom. entomol. U. S. Departm. of agricult. Divis. of entomol. N. S. Bullet. No. 26. Washington 1900. p. 90—94.)
- Zirngiebl, H.**, Zwei Obstblattschaben. (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1900. Heft 12. p. 91—94.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

- Holtz, Wilhelm**, Beitrag zur Kenntnis der Baumflüsse und einiger ihrer Bewohner. (Orig.) [Forts.], p. 229.
- Knecht, Wilhelm**, Auswahl von Kohlehydraten durch verschiedene Hefen bei der alkoholischen Gärung. (Orig.) [Schluß], p. 215.
- Matsuschita, Tetsi**, Der Einfluß der Temperatur und Ernährung auf die Eigenbewegung der Bakterien. (Orig.), p. 209.

Referate.

- v. Aigner-Abaf, L.**, *Acherontia atropos* L. IV. Schädlichkeit, p. 252.
- Buchner, Eduard**, Zymase aus getöteter Hefe, p. 247.
- Dunbar u. Dreyer**, Untersuchungen über das Verhalten der Milchkakterien im Milchthermophor, p. 240.
- v. Lagerheim, G.**, Mykologische Stu-

dien. III. Beiträge zur Kenntnis der parasitischen Bakterien und der bakteriociden Pilze, p. 248.

Lindner, Paul, Eine einfache Methode zur Bestimmung der Vergärbarkeit der verschiedenen Zuckerarten durch Gärungsorganismen, p. 241.

Loew, Oscar, Physiological studies of Connecticut leaf tobacco, p. 250.

Nobbe, F. u. Hiltner, L., Wie läßt sich die Wirkung des Nitragins erhöhen?, p. 238.

Schierbeck, N. P., Ueber die Variabilität der Milchsäurebakterien mit Bezug auf die Gärungsfähigkeit, p. 239.

Sitnikoff u. Rommel, Vergleichende Untersuchungen über einige sogenannte *Amylomyces*-Arten, p. 245.

Thiele, E., Zur Verbreitung der Leguminosenbakterien, p. 238.

Neue Litteratur, p. 222.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Prof. Dr. J. Behrens in Weinsberg i. W.,
Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Dr. v. Freudenreich in Bern, Privatdocent
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Dr. G. Harris Morris
in London, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädenswil, Dr. Erwin F. Smith in
Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr.,
Prof. Dr. Welmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel
und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VII. Band.

Jena, den 12. April 1901.

No. 8.

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Die Stickstoffassimilation durch die lebende Bakterienzelle.

[Aus der physiologischen Versuchsstation der k. k. böhm. techn.
Hochschule in Prag.]

Von Julius Stoklasa und Eugen Vitek.

Die Assimilation des Stickstoffs der Luft durch die Mikroben-
zelle gehört heute unstreitig zu den bedeutungsvollsten Problemen

der modernen biologischen Forschung. Seit den ersten Untersuchungen M. Berthelot's im Jahre 1883, um welche Zeit die Frage zum erstenmale ein lebhafteres Interesse physiologischer Experimentatoren erweckt hatte, ist bereits eine Reihe von Jahren verstrichen, und doch müssen wir gestehen, daß wir außer den Arbeiten von Beijerinck, Kossowitsch, Schloesing, Laurent und, namentlich in der jüngsten Zeit, von Sergiej Winogradsky nur wenige exakte Forschungen kennen, welche eine seriöse Diskussion zulassen.

Es läßt sich nicht in Abrede stellen, daß M. Berthelot¹⁾ durch seine interessanten Studien „Nouvelles recherches sur les microorganismes fixateurs de l'azote“ bewiesen hat, daß eine durch die Vitalprozesse der Mikroben bewirkte Assimilation des Stickstoffs der Luft thatsächlich stattfindet.

Die Arbeiten Kossowitsch's²⁾, Schloesing's und Laurent's³⁾ bedeuten einen weiteren Fortschritt auf diesem Gebiete, da es diesen Forschern gelungen ist, bestimmt nachzuweisen, daß Bakterien in Symbiose mit Algen den Stickstoff der Luft assimilieren. Während Frank auf Grund nicht durchaus exakter Versuche diese Assimilation allen Zellen des Pflanzenreiches, und zwar sowohl den chlorophyllhaltigen, wie auch den chlorophylllosen zugeschrieben hat, haben Hellriegel und Wilfarth seit dem Jahre 1886 auf Grund von Vegetationsversuchen die Assimilation des Stickstoffs der Luft durch die in Leguminosenknöllchen enthaltenen Bakterien verteidigt. Beijerinck⁴⁾ war bestrebt, durch direkte Versuche nachzuweisen, daß der *Bacillus radicola* den elementaren Stickstoff der Luft assimiliert, doch vermochten andere Experimentatoren auf Grund ihrer diesbezüglichen Versuche diese Annahme Beijerinck's nicht zu bestätigen, bis erst Mazé⁵⁾ diese als wahrscheinlich hingestellt hat.

Will man der Wahrheit Raum geben, so muß man zugeben, daß wir bis zum heutigen Tage die vitalen Verhältnisse in den komplizierten Prozessen bei den in den Knöllchen enthaltenen Bakterien und bei der Assimilations- und Dissimilationsthätigkeit der lebenden Pflanzensubstanz fast gar nicht kennen. Von den Symbioseprozessen kann, auf Grund der in der jüngsten Zeit gemachten Entdeckungen, keine Rede mehr sein, da diese zum Teil analoge Vorgänge des Parasitismus sind, wie er in der lebenden Materie der Flechten vorkommt. Unsere neuen Forschungen stellen diesen ganzen physiologischen Prozeß in ein anderes Licht, wie aus der weiteren Abhandlung erklärt werden soll.

Eine interessante Erscheinung besteht darin, daß der *Bac.*

1) *Chimie végétale et agricole*. Par M. Berthelot. T. I. Fixation de l'azote libre sur la terre et sur les végétaux. Paris 1899.

2) *Botanische Zeitung*. 1894.

3) *Annales de l'Institut Pasteur*. 1891.

4) *Botanische Zeitung*. 1888 und 1890. *Centralbl. für Bakter.* 1892. *Akad. d. Wissenschaften*. Amsterdam. 1891.

5) *Thèses présentées à la faculté des sciences de Paris etc. Les microbes des nodosités des légumineuses*. Par M. Mazé. *Étude physiologique*. 1898.

radicicola, trotz seiner großen Verbreitung im Boden, aus diesem in Reinkultur bisher nicht isoliert worden ist. S. Winogradsky¹⁾ ist bei seinen klassischen Studien über die Assimilation des Stickstoffs der Luft auf interessante Art und Weise zur Isolierung eines Mikroben gelangt, der zur Gattung der Buttersäure-Bakterien gehört, den er mit dem Namen *Clostridium Pasteurianum* bezeichnet hat. Das anaërobiotische *Clostridium* wurde als ein ziemlich energischer Stickstofffixator erkannt, da es im Laufe von 20 Tagen 24,68 mg Stickstoff aus der Luft assimiliert hat, und zwar in einem Nährmedium, welches außer organischen Nährstoffen 20 g Glukose und 20 g Calciumkarbonat enthielt. In vollem Einklange mit der Assimilation des Stickstoffs der Luft geht auch die Buttersäuregärung vor sich, wobei normale Buttersäure, Essigsäure und außerdem Spuren eines höheren Alkohols entstehen; an Gasen wurden Wasserstoff (60—75 Proz.) und Kohlensäure entbunden.

Interessant ist, daß das *Clostridium* in einer gewissen Synergie mit 2 Mikroben lebt, welche Winogradsky mit dem Namen *Bacillus* α und β bezeichnet hat. Dabei stellte sich heraus, daß in dem Gemisch der 3 Formen: *Bac.* α und β und *Clostridium* die erstgenannten Bacillen in der Weise funktionierten, daß sie das stickstofffixierende anaërobiotische *Clostridium Pasteurianum* vor Sauerstoffzutritt schützten. In seinen Schlußfolgerungen stimmt Winogradsky mit Berthelot nicht überein, der, wie bekannt, die Fähigkeit, den Stickstoff der Luft zu assimilieren, unzähligen im Boden enthaltenen Bakterien zuschreibt.

In dieser Hinsicht können wir Winogradsky nicht bestimmen, da wir Gelegenheit haben werden, zu konstatieren, daß diese Erscheinung gar nicht so selten und vereinzelt dasteht, wie sie Winogradsky schildert, sondern, daß die Fähigkeit, den Stickstoff in elementarer Form zu assimilieren, zahlreichen, in der Ackerkrume vorkommenden prototrophen Bakterien eigen ist.

In der jüngsten Zeit hat Caron in Ellenbach, auf Grund seiner langjährigen Vegetationsversuche nachgewiesen, daß eine Accumulation des Stickstoffes mittels Bakterien thatsächlich stattfindet. Namentlich der von Caron isolierte *Bacillus Ellenbachii*, der, wie durch unsere Arbeiten bewiesen wurde, mit dem *Bacillus megaterium* identisch ist, hat die Erträge nach erfolgter Impfung bedeutend gesteigert. Durch die Einführung der Reinkultur dieses Mikroben, der unter dem Namen „Alinit“ seitens der Firma „Farbenfabriken vorm. Friedr. Bayer & Co. in Elberfeld“ auf den Markt kam, kam die Frage der Stickstoffassimilation in rechten Fluß, und man hat ihr, ihrer praktischen Seite wegen, ein erhöhtes Augenmerk zugewendet. Da nun seit dieser Zeit bereits 3 Jahre verstrichen sind, so kann man wohl auf Grund der allseits durchgeführten Versuche sich an die Aufstellung einer gewissen

1) Sur l'assimilation de l'azote gazeux de l'atmosphère par les microbes. (Comptes rendus de l'Acad. Paris. T. CXVI. 1893.) —

Recherches sur l'assimilation de l'azote libre de l'atmosphère par les microbes. (Archives des sciences biologiques publ. l'Institut imp. de méd. expér. à St. Pétersbourg. T. III.)

Bilanz wagen, und so bemerken wir, daß — soweit uns aus der betreffenden Litteratur bekannt ist — unsere Befunde nach den von uns vorgeschlagenen Modifikationen der Art und Weise der Anwendung des „Alinit“ von folgenden Forschern bestätigt worden sind: Prof. Dr. L. Grandeau¹⁾, Prof. E. d. Gain²⁾, Prof. P. Kossowitsch³⁾, Dr. Lutoslawski⁴⁾, Prof. Malpeau⁵⁾, Dr. Rzetkowski⁶⁾, Dr. Sempolowski⁷⁾, Dr. Rippert⁸⁾, Prof. D. A. Damseaux⁹⁾, Prof. E. Chancriu¹⁰⁾, Dr. A. P. Aitken, Dr. Clement¹¹⁾ etc. Von den praktischen Versuchen erwähne ich hier die Beobachtungen von Direktor Rud. Salzer¹²⁾; außerdem lauteten die Ergebnisse von etwa 30 praktischen Versuchen, welche der „Landeskulturrat für das Königreich Böhmen“ an vielen Orten durchführen ließ, ebenfalls günstig für das Alinit.

Untersucht man den Boden, welcher nach der Impfung mit dem Mikroben *Bacillus megaterium* erhöhte Cerealiennerträge geliefert hat, so findet man regelmäßig, daß das Extrakt dieses Bodens auf Agar- und Gelatineplatten zahlreiche Kolonien von Denitrifikationsbakterien hinterläßt. Diese Erscheinung wurde regelmäßig beobachtet, und es wurden bei weiteren morphologischen und biologischen Untersuchungen verschiedene Mikroben konstatiert, welche die Nitratgärung in der Buttersäure, Bernsteinsäure, Citronensäure, Äpfelsäure, d-Glukose, Xylose und Arabinose bewirken; als solche wurden gefunden: *Bac. humosus*, *Bac. fluorescens liquifaciens*, *Bac. pyocyaneus*, *Bac. denitrificans*, *Bac. coli commune*, *Bac. Stutzeri* und andere bisher noch nicht näher, oder gar nicht beschriebene Bakteriengattungen, welche ebenfalls die Nitritgärung verursachen.

Ein sehr interessantes Bild lieferte der Boden aus Ellenbach von dem Besitze des Herrn Caron, denn diese Ackerkrume enthielt eine große Menge von verschiedenen Denitrifikationsbakterien. Wie bekannt, hat Hartleb aus diesem Boden eine Bakterie isoliert, welche eine energische Nitratgärung herbeiführt und den Hjalmor Jensen mit dem Namen *Bact. Hartlebii* bezeichnet hat.

Alle die oben erwähnten Species gehören in die Gruppe jener

1) Journal d'Agriculture pratique. Paris 1898. 1899. 1900. Dann mehrere Artikel in „Le Temps“. 1898.

2) Revue générale de botanique. Paris. T. XI. 1899.

3) Expériences concernant l'efficacité de l'alinite comme engrais. Pétersbourg 1900.

4) Deutsche landw. Presse. 1899.

5) Annales agronomiques.

6) „Le Temps“. 1898. 23. Décembre.

7) Deutsche landw. Presse. 1899.

8) Bericht der landw. Kreislehranstalt zu Nauen. 1900.

9) Bulletin de la Station agronomique Gembloux. 1900.

10) Expériences faites à l'école pratique d'Agriculture de l'Allier. 1899.

11) Es wäre mir leicht möglich, noch weitere Belege aus den Berichten, die mir fast aus der ganzen Welt zugekommen sind, anzuführen, und zwar sowohl von wissenschaftlicher, als auch von praktischer Seite; Berichte, deren Mehrzahl meine Forschungen in vieler Hinsicht bestätigen.

12) Deutsche landw. Presse. 1900. No. 13.

Bakterien, welche eine starke Salpetergärung, die mit der Bildung des elementaren Stickstoffes verbunden ist, bewirken, vorausgesetzt allerdings, daß sie sich in einem Nährmedium befinden, wie es z. B. die Bernsteinsäure, die Aepfelsäure, die Citronensäure und die Milchsäure, von den Hexosen die d-Glukose, von den Pentosen die l-Xylose und die l-Arabinose, von den Disacchariden die Saccharose, Maltose und die Laktose sind.

Diese Erscheinung führte uns unwillkürlich auf den Gedanken, ob zwischen den Denitrifikationsprozessen und der Assimilation des elementaren Stickstoffes durch Bakterien nicht etwa ein Zusammenhang bestehe. Durch das Studium der Vitalprozesse der Mikroben *Bact. Hartlebii*, *Bac. fluorescens liquefaciens*, *Bact. pyocyaneum*, *Bact. Stutzeri*, *Bact. centropunctatum*, *Bact. filefaciens*, *Bac. denitrificans*, *Bact. coli commune*, *Bact. nitrovorum* und *Bac. typhi abdominalis* in verschiedenem Nährmedium bei Gegenwart von Natriumnitrat, sowie des Verhaltens der Bakterien: *Bac. megaterium*, *Bac. mycoides*, *Bac. subtilis*, *Bac. mesentericus vulgatus*, *Bac. ramosus*, *Proteus vulgaris* und *Proteus Zenkeri* wurde der Weg zur Erkenntnis neuer charakteristischer Eigenschaften in dem Leben der genannten Bakterien eröffnet.

Die Aërobie und die Anaërobie, welche durch die Vitalprozesse der Bakterien in verschiedenen Nährmedien herbeigeführt wurden, wurden entweder von energischer Gärung und starker Wasserstoffentbindung, oder von der Zersetzung von Kohlehydraten und organischen Säuren, bei gleichzeitiger, schwächerer Wasserstoffentwicklung begleitet.

In ersterem Falle findet eine energische Denitrifikation unter Entwicklung des elementaren Stickstoffes und im zweiten Falle die Metamorphose der Salpetersäure aus dem Natriumnitrat in Nitrite und Ammoniak statt, welches quantitativ immer nachgewiesen werden kann; in beiden Fällen wird aber immer organischer Stickstoff gebildet, der namentlich in der entstehenden Masse der neuen Mikrobengeneration vertreten ist.

Haben die Denitrifikationsbakterien in dem Nährmedium eine geeignete Quelle zur Bildung neuer, lebender Moleküle, und zwar zu Assimilations- und Dissimilationsprozessen gefunden (wie z. B. in den oben aufgeführten Nährmedien), so findet eine stürmische Gärung unter starker Wasserstoffentwicklung statt. Die Analyse der Gase, welche bei der durch *Bact. Hartlebii* in der d-Glukose bewirkten Salpetergärung entstanden sind, hat die nachstehende Zusammensetzung ergeben ¹⁾:

Stickstoff	64	Proz.
Kohlensäure	28	"
Wasserstoff	8	"

Von dem gesamten, im Natriumnitrat dargebotenen Stickstoffe

1) Sehr interessante Forschungen über Denitrifikationsprozesse veröffentlichten Pfeiffer und Lemmermann, welche auch die Analysen der Gase anführen, die bei der Nitratgärung entstehen. (Landw. Versuchsstationen. 1898.)

entweicht eine Menge von 70—96 Proz. in Form elementaren Stickstoffes, der übrig bleibende Teil dient zum Aufbau der Leibes-, substanz der nitratreduzierenden Bakterien. Allerdings erfolgt dieser Vorgang vornehmlich dann, wenn die Bakterien in der Nährsubstanz gewisse organische Säuren und labiler aufgebaute Kohlehydrate (d-Glukose) vorfinden. Ist jedoch z. B. in der Nährsubstanz stabilere d-Galaktose und d-Lävulose vertreten, dann sinken die Vitalfunktionen bei überaus zahlreichen Bakterien auf ein Minimum herab. Die Nitrate, sowie reine d-Galaktose und d-Lävulose bleiben absolut intakt. Das Nährmedium war nachstehend zusammengesetzt: In 1000 ccm Wassers waren enthalten: Kohlenstoffquelle: 2 g einer organischen Säure oder irgend eines Kohlehydrates. Stickstoffquelle: 2 g Natriumnitrat.

Anorganische Nährstoffe:

0,25 g Natriumphosphat (H.Na ₂ PO ₄),
0,20 g Kaliumsulfat,
0,05 g Calciumchlorid,
0,05 g Magnesiumchlorid,
0,10 g Natriumkarbonat,
0,05 g Ferriphosphat.

Die Kolben faßten 2300 ccm. Nach gründlicher Sterilisation und Verlauf des Inkubationsstadiums wurden die Kolben mit den einzelnen Bakterien-species geimpft. Die Versuche dauerten 30 Tage. Das Studium über den Einfluß der Bakterien im einzelnen Nährmedium erfolgte in einer geräumigen Brutkammer (in der biologischen Kammer) bei 28—30° C und bei Verhinderung des Zutritts des Tageslichtes. Der Stickstoff wurde bestimmt:

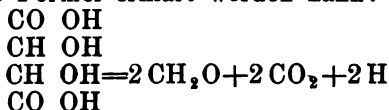
In Form von Ammoniak;

„ „ „ salpetriger und Salpetersäure; schließlich
 „ organischer Form¹⁾.

1) Die analytische Methode wurde in folgender Anordnung angewendet: Der Inhalt der Kolben wurde nach dem Versuche auf 2000 ccm verdünnt. Aus diesem Meßgefäße wurden sodann 500 ccm, eventuell 1000 ccm zur Bestimmung des Ammoniaks genommen. Die Destillation des Ammoniaks wurde mittels Kaliumhydroxyd und auch mit Magnesia durchgeführt. Kleine Quantitäten von Ammoniak wurden auch kolorimetrisch bestimmt. Allerdings, als Ammoniakergbenisse wurden nur jene Ziffernresultate betrachtet, die sich bei der Destillation mit Magnesia oder bei der kolorimetrischen Methode ergaben. Die Salpetersäure wurde durch Reduktion in alkalischer, alkoholischer Lösung mit Aluminium und Kupferzinklegierung nach der Methode von Devarda bestimmt. In den, nach Bestimmung des Stickstoffes in Form von Ammoniak und Salpetersäure zurückgebliebenen Resten wurde, nach gründlicher Ansäuerung, der organische Stickstoff, nach der Methode Kjeldahl's konstatiert. Die salpetrige Säure wurde neben der Salpetersäure nach der modifizierten Methode Pellet's in besonders konstruierten Apparaten bestimmt. Der Stickstoff in Form von Salpetersäure läßt sich, falls er in größeren Mengen vorhanden ist, in exakter Weise neben Ammoniak und organischem Stickstoff bei Gegenwart von Hexose und Pentose sowie Disacchariden nicht genau konstatieren, wie wir uns aus einer ganzen Reihe analytischer Operationen überzeugt haben, und zwar, weder nach der Methode Jodelbauer's, noch nach jener Förster's. Beide Methoden liefern regelmäßig kleinere Resultate. Die Analysen wurden stets in mehreren Kolben durchgeführt, immer 2—3mal. Qualitativ wurde die Anwesenheit der salpetrigen Säure und Salpetersäure, sowie des Ammoniaks nach bekannter Methode geprüft.

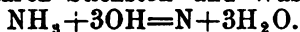
Aus den umfassenden analytischen Daten gelangt man zu folgendem Resumé: Es ist überhaupt eine interessante Erscheinung, daß die organischen Säuren, wie die Bernsteinsäure, die Citronen-, die Aepfel-, Asparagin- und Milchsäure ausgezeichnete Medien für die Nitratgärung abgeben. In diesen, bis zur schwach alkalischen Reaktion mit Natriumkarbonat neutralisierten organischen Säuren wurden 2 g NaNO_3 (bei Gegenwart von 2 g organischer Säuren und den übrigen anorganischen Nährsubstanzen) durch alle nitrat-reduzierenden Bakterien vergoren: *B. Hartlebii*, *B. fluorescens liquefaciens*, *B. pyocyaneum*, *B. Stutzeri*, *B. centropunctatum*, *B. filefaciens*, *B. denitrificans* (*B. denitrificans* und *B. coli commune*), *B. nitrovorum*.

Die d-Glukose macht bereits eine Ausnahme; dieselbe zersetzt nur einige Species von Bakterien. Die Xylose und Arabinose ist schon ein minder wertvolles Nährmedium für Denitrifikationsprozesse und für die Entwicklung elementaren Stickstoffes mit Bezug auf gewisse Mikrospecies. Unwillkürlich drängt sich nun die Frage auf, wie die Nitratgärung durch gewisse Bakterienpecies vornehmlich in organischen Säuren hervorgerufen wird? Dringen wir etwas tiefer in all die verschiedenen biochemischen Prozesse bei der Nitratgärung ein, dann erkennen wir, daß man betreffs vieler Nährmedien nachzuweisen in der Lage ist, daß sich von dem gesamten Stickstoff des Natriumnitrats — gegebenenfalls bis 20 Proz. — in Form von Ammoniak vorfindet, wenn die Nitratgärung sehr langsam vor sich geht, wie z. B. in einer schwach alkalischen Lösung von Milchsäure mit einer Kultur von *Bacillus fluorescens liquefaciens*. Bei langsamer Gärung läßt sich regelmäßig salpetrige Säure nachweisen. Wenn die Gärung eine energische, stürmische ist, dann werden wir weder Ammoniak noch salpetrige Säure nachweisen. Der Prozeß läßt sich in folgender Weise erklären: Finden die Bakterien in dem Nährmedium eine Energiequelle zum Aufbau der Moleküle der lebenden Materie — und ferner — sind sie in der Lage, in normaler Weise ihren Assimilations- und Dissimilationsprozeß zu durchlaufen, dann zersetzen die Bakterien Wasser in Wasserstoff und Hydroxyl, $\text{H}_2\text{O} = \text{H} + \text{OH}$. Diese physiologische Leistung der Zelle der Bakterie ist abhängig von der Gewinnung einer bestimmten Energie, die durch Zersetzung gewisser organischer Substanzen entwickelt wird. Wenn wir uns tiefer in den Prozeß, der sich da abspielt, versenken, so erkennen wir, daß die Nitratgärung eigentlich eine Anaërobiose, eine intramolekulare Atmung der lebenden Zelle der Mikroben ist, gleich einer Spaltung der organischen Säuren durch die Anaërobiose¹⁾, welche durch die folgende Formel erklärt werden kann:



1) Loew, Oscar, Die chemische Energie in der lebenden Zelle. München 1899.

Wasserstoff im statu nascenti — reduziert allerdings — Salpetersäure aus dem Nitrat in alkalischen Medien zu Ammoniak, aber Ammoniak, durch die stete Entwicklung von Hydroxyl, das aus der Zersetzung von Wasser hervorgeht und im statu nascenti auftritt, übergeht in elementaren Stickstoff und Wasser nach der Formel:



Es ist somit zu ersehen, daß gewisse organische Säuren (Bernsteinsäure, Asparaginsäure, Aepfelsäure, Milchsäure, Citronensäure) Körper sind, welche nebst einem gewissen Maß von kinetischer Energie Formaldehyd durch Gärung liefern können. Organische Säuren sind vorzügliche Kohlenstoffquellen für fast alle nitrat-reduzierenden Bakterien (welche Nitratgärung verursachen). Die Elekktion der Nährstoffe spielt eine große Rolle bei der Nitratgärung, denn der ökonomische Koeffizient¹⁾ tritt auch in markantem, höchstem Maße auf, ganz dem Charakter der organischen Säuren entsprechend.

Ueberhaupt gelangen wir aus allen Beobachtungen zu der Hypothese, daß zwischen dem Protoplasma der Bakterienzelle oder dem durch das Protoplasma ausgeschiedenen Enzymen und dem Nährmedium aus der Reihe der Kohlehydrate und der organischen Säuren eine Aehnlichkeit der molekularen Konfiguration bestehen muß, wenn Reaktion erfolgen soll. Namentlich frappant tritt aber das interessante Verhältnis zwischen der Konfiguration der Hexosen und den bei der Gärung in Kraft tretenden chemischen Agentien der Bakterienzelle auf. Warum z. B. hat sich von bekannten Aldohexosen die d-Galaktose für eine Reihe von Bakterien nicht gärfähig gezeigt; warum hat sich ferner die Ketohexose d-Fruktose als durchaus schlechtes Nährmedium für die Bildung neuer, lebender Moleküle der Mikroben erwiesen? Es ist dies allerdings die Aufgabe unserer weiteren Studien, die stereochemischen Verhältnisse, die hier existieren, zu ergründen, einerseits in den Denitrifikationsprozessen, andererseits in der Assimilation des elementaren Stickstoffes in der lebenden Bakterienzelle.

Treten an die Stelle der organischen Säuren im Nährmedium²⁾ Hexosen, und zwar d-Glukose, d-Lävulose oder d-Galaktose, von den Pentosen: l-Xylose oder l-Arabinose, von den Disacchariden Saccharose oder Maltose, dann vergären nur einige Bakterienarten die d-Glukose und Saccharose mit Salpeter und reduzieren die Nitrate in elementaren Stickstoff. (*Bact. Hartlebii*, *Bac. denitrificans* mit *Bact. coli commune*, *Bac. fluorescens liquefaciens*, *Bact. pyocyaneum*.)

1) Pfeffer, W., Jahrbuch für wiss. Botanik. 1895.

2) Das Nährmedium war folgendermaßen zusammengesetzt: In 1000 ccm Wassers waren enthalten: Kohlenstoffquelle: 2 g organischer Säure, oder irgend ein Kohlehydrat. Stickstoffquelle 2 g Natriumnitrat. Anorganische Nährstoffe:

- 0,25 g Natriumphosphat ($\text{Na}_2\text{H PO}_4$),
- 0,20 g Kaliumsulfat,
- 0,05 g Calciumchlorid,
- 0,05 g Magnesiumchlorid,
- 0,10 g Natriumkarbonat,
- 0,05 g Ferriphosphat.

Es sind dies namentlich *Bact. Hartlebii*, *Bac. denitrificans* mit *Bact. coli commune*.

Bei Gegenwart von l-Arabinose und l-Xylose ist die Reduktion der Nitrate in elementaren Stickstoff selten eine vollständige; es lassen sich stets Nitrate, Nitrite und Ammoniak nachweisen. Dasselbe gilt von der Maltose. Keinerlei Reduktion der Nitrate tritt im Nährmedium ein, wo chemisch reine d-Lävulose und d-Galaktose bei der Mehrzahl der bis jetzt bekannten Denitrifikationsbakterien gegenwärtig sind.

In der Mehrzahl der genannten Kohlehydrate verwandeln die nitratreduzierenden Bakterien die Nitrate in Nitrite und in Ammoniak, und der Verlust an Stickstoff erreicht sehr selten einmal die Höhe von 60 Proz. des gesamten, im Nährmedium enthaltenen Stickstoffes ¹⁾.

Finden sich jedoch im Nährmedium bei Gegenwart von organischen Säuren *Bac. megaterium*, *Proteus vulgaris*, *Proteus Zenkeri*, *Bac. mesentericus vulgatus*, *Bac. ramosus*, *Bac. subtilis*, *Bac. mycoides*, *Bac. typhi abdominalis*, dann gewahren wir bereits eine geringere Entwicklung von Bakterien und der ökonomische Koeffizient sinkt. Im biochemischen Prozesse giebt es keine Nitratgärung, sondern bloß eine langsame Reduktion der Nitrate in Nitrite und Ammoniak. Dieser Prozeß der Ammonisation zeigt sich aber in vollem Flusse bei Gegenwart von d-Glukose, l-Arabinose, l-Xylose, Saccharose und Maltose. Von den oben genannten Bakterien entwickeln sich nur einige in d-Lävulose und d-Galaktose, und zwar sehr schlecht. (Die Versuche müssen noch wiederholt werden.)

Thatsache ist, daß namentlich in d-Glukose, l-Xylose, l-Arabinose, gegebenenfalls selbst in Saccharose und Maltose die Reduktion der Nitrate in Nitrite und Ammoniak bei überaus zahlreichen Bakterien wohl langsam vorwärts schreitet, aber mit unmerklichen Verlusten von Stickstoff. (Wir dürfen daher auf den gesamten, im Chilisalpeter enthaltenen Stickstoff rechnen.)

Wir nennen hier vor allem: *Bac. mycoides*, *Bac. typhi abdominalis*, *Bact. coli commune*, *Bac. megaterium*, *Bac. subtilis*, *Bac. ramosus* u. s. w.

Im Nährmedium, woselbst der Gärungsprozeß überhaupt nicht wahrgenommen werden kann, aber beide Phasen, und zwar die Reduktion der Nitrate in Nitrite und Ammoniaksalze zu dokumentieren sind, ist die Zersetzung des Wassers in Hydroxyl und Wasserstoff von sehr langsamem Charakter, so daß das Hydroxyl im Ammoniak überhaupt nicht, oder doch nur sehr wenig wirkt.

Der Atmungsprozeß ist nicht intensiv und mit ihm auch die Entwicklung des freien Stickstoffes. Bei diesen biochemischen

1) Wir publizieren vorläufig zum Zwecke der Information bloß das Resumé unserer Studien über die Physiologie der Denitrifikation; die vollständige und ausführliche Studie erscheint ehestens im Drucke. Wir bemerken, daß wir die Resultate unserer Arbeiten auf der Versammlung der Naturforscher und Aerzte vom 2. Juli 1900 in Krakau vorgelegt haben.

Prozessen bemerken wir auch, daß die Entwicklung des elementaren Stickstoffes überaus häufig auf ein Minimum sinkt.

Wie schon angeführt, geht die Metamorphose der Nitrate in Ammoniak in zwei Phasen vor sich. Zuerst wirkt der sich entwickelnde, in statu nascenti auftretende Wasserstoff auf die Bildung der Nitrite aus den Nitraten und überführt dieselben schließlich in Ammoniak. — Und warum? Weil die Entstehung des Ammoniakkes einen wichtigen Behelf für die Eiweißsynthese in der Zelle der Mikroben darstellt, welche (Eiweißstoffe) mit Hilfe der Zersetzungsprodukte des Nährsubstrates erfolgt. (Gewisse Arten von Kohlehydraten und organischer Säuren.)

Ammoniak entsteht aus den Nitraten immer und bei allen Gärungsprozessen, und ist die Entwicklung desselben um so intensiver, je stürmischer die Gärung verläuft. In jeder Gärung jedoch geht ein Teil des Stickstoffes aus dem Ammoniak in elementaren und ein kleiner Teil in organischen Stickstoff über, und zwar in lebende Mikrobenmaterie. Dieser ganze Prozeß der Bildung organischen Stickstoffes in der lebendigen Masse der Mikroben ist abhängig von dem Verhältnis des Nitrates zur Menge des Nährmediums, welches entweder in Form eines Kohlehydrates, oder einer organischen Säure vertreten ist. Wenn im Nährmedium, und zwar in einem Liter der Lösung auf 2 g Salpeter 2 g organischer Säure oder gewisser Arten von Kohlehydraten (d-Glukose, Saccharose etc.) entfallen, dann bilden sich aus dem gesamten Stickstoff bloß 10 Proz., im Maximum ca. 16 Proz. (sehr selten) organischen Stickstoffes in der lebenden Materie der Mikroben nach dem Gärungsprozesse des Nitrates. Ist jedoch das Verhältnis des Nitrates z. B. zu der d-Glukose ein solches, daß auf 2 g des Nitrates die 5-fache Menge der d-Glukose vorhanden ist, dann bilden sich bis zu 30 Proz. (dreißig) des gesamten, im Nährmedium vorhandenen Stickstoffes in die lebende Mikrobenmaterie um. Kurz, die Entwicklung der Mikroben hängt in erster Linie von der Menge des Nährmediums, das zur Bildung neuer, lebender Moleküle stickstoffhaltiger Substanz der Mikroben dienen kann, ab; freilich geht der Prozeß nur bis zu einer gewissen Grenze und ist abhängig von der Konzentration der Nährlösung. Allgemein gültige Regeln lassen sich nicht aufstellen; die biologisch-chemischen Verhältnisse hängen von dem individuellen Charakter der betreffenden Bakterien-species ab. In dieser kurzen Zeit — während welcher die Gärung dauert — d. i. in 5—6 Tagen, wächst bei zahlreichen Mikroben so viel lebende Materie an, als bei anderen, bei denen ein langsamer und mäßiger Fortschritt der Ammonisation stattfindet, in 30 Tagen. (Selbstverständlich unter absolut analoger Weise der Impfung und gleicher Bedingung der Entwicklung.) In neuerer Zeit vermuten zahlreiche Forscher, wie Stutzer, Hartleb (Mitteilungen der landw. Institute der kgl. Universität Breslau. 1899. Heft 1), Maul (Siehe Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. II. 1896), Weissenberg (Archiv f. Hygiene. Bd. XXX. p. 274)¹⁾, daß die Reduktion der Nitrate deshalb erfolgt, damit

1) Ich erwähne hier die interessante Arbeit, welche unlängst Otto Lem-

der Sauerstoff des Nitrates den notwendigen Dissimilationsprodukten diene. Diese Anschauung ist, wie wir uns erlauben werden, in unseren experimentellen Studien nachzuweisen, unrichtig. Die Energie der Plasmathätigkeit der Bakterien in der Zersetzung des Wassers in Hydroxyl und Wasserstoff bildet einen individuellen Charakter der einzelnen Mikrobenspecies und hängt in erster Linie von der Nährsubstanz ab, und zwar davon, ob es ein gutes Eiweißbildungsmaterial und weiter ein gutes Respirationsmittel ist. Der bekannte Forscher Traube (Theorie der Fermentwirkungen. Berlin 1858. p. 105) war der erste, der bei den Fermentationsprozessen auf die Zersetzung des Wassers hinwies. Traube schreibt nämlich in dem citierten Werke (p. 105):

„Die Veränderungen, die viele organische Körper durch Sauerstoff übertragende Fermente erleiden, die Gärungen, gehen fast immer unter Beteiligung des Wassers vor sich und zwar auf die Weise, daß die Fermente zunächst mit Hilfe einer Atomgruppe A des gärenden Körpers das Wasser zersetzen; A nimmt den Wasserstoff, das Ferment den Sauerstoff auf, um ihn auf eine andere Atomgruppe B des gärenden Körpers zu übertragen.“

Später spricht sich Hoppe-Seyler (Physiologische Chemie. Berlin. Bd. I. 1877) folgendermaßen aus: „Alle fermentativen Prozesse verlaufen nur in hinreichend verdünnten, wässerigen Lösungen ungestört und die chemische Mitwirkung des Wassers scheint für alle erforderlich zu sein.“

M. Nencki kommt in seiner interessanten Studie: „Der chemische Mechanismus der Fäulnis“¹⁾ auf Grund komparativer Versuche zu folgendem Resumé: Schmelzendes Kali zersetzt Eiweiß oder dessen Derivate immer nach gleichem Modus, indem es in $H + KO$ zerfällt, wodurch gleichzeitig Reduktions- und Oxydationsprodukte entstehen. Die Einwirkung muß eine sehr intensive sein, sobald die Amidosäuren unter Wasserstoffentwicklung zu Kohlensäure und kohlenstoffärmeren Fettsäuren oxydiert werden, denn, wie oben erwähnt, zeigte Schützenberger, daß Eiweiß durch mehrtägliches Erhitzen mit Baryhydrat auf $160-200^{\circ}$ vollkommen in krystalloide Produkte (Kohlensäure, Essigsäure, Oxalsäure, Ammoniak und Amidosäuren) gespalten wird. — Es entstehen aber dabei kein Wasserstoff, keine Valerian- oder Buttersäure, und auch nicht die für die Fäulnis charakteristischen aromatischen Spaltungsprodukte.

Da nun bei der Bakterienfäulnis aus dem Eiweiß die gleichen Produkte, wie durch schmelzendes Kali gebildet werden, so liegt die Annahme sehr nahe, daß bei der Fäulnis die Rolle des Kalihydrats das Wasser übernimmt, indem es in Wasserstoff und Hydroxyl zerfällt, d. h. daß die Fäulnisorganismen Wasser in $H + OH$ spalten, wodurch das Auftreten von Reduktionsgasen neben Hydratations- und Oxydationsprodukten aufs einfachste erklärt wird.“

mermann unter dem Titel: „Kritische Studien über Denitrifikationsvorgänge.“ Jena. 1900, herausgegeben hat. In dieser Arbeit sind alle hervorragenden Untersuchungen über Denitrifikationsvorgänge enthalten.

1) Journal für praktische Chemie. Leipzig 1878.

Es läßt sich nicht leugnen, daß durch das tiefere Eindringen in die Erscheinungen der Gärung sich uns die Hypothese Nencki's als sehr wahrscheinlich erschließt und uns den Weg beleuchtet, der sowohl zur Erklärung der chemischen Prozesse der Mikrobenzelle, als auch der Nitratgärung führt. Die Vitalprozesse einiger Mikroben, welche sich bei der Nitratgärung abspielen, unterscheiden sich wesentlich von den physiologischen Prozessen, die hervorgerufen werden von der Gruppe *B. megaterium*, *B. subtilis*, *B. mycoides*, *B. ramosus* u. s. w., und es ist eine interessante Erscheinung, daß gerade dort, wo nach der Impfung mit Alinit sich ein höherer Ertrag entweder in der Trockensubstanz der Pflanzenmaterie oder an Stickstoff (den Körnern oder dem Stroh) gezeigt hat, in Gegensatz zu nicht geimpften Parzellen *Bacillus megaterium* regelmäßig in Synergie mit Bakterien lebte, die eine Nitratgärung verursachen, und zwar in elementaren Stickstoff.

Da tritt uns unwillkürlich das Problem entgegen, ob nicht in der einen Mikrobenzelle ein überwiegend analytischer, in der anderen hingegen ein vorherrschend synthetischer Prozeß vor sich gegangen sein müsse? Vor allem taucht da die Frage auf, ob der *Bacillus megaterium* im stande ist, atmosphärischen Stickstoff zu assimilieren?

Die Versuche, die wir im Ackerboden mit Gersten- und Hafervegetation in besonderen Gefäßen gemacht haben, hatten ein positives Resultat¹⁾. Weitere Versuche zielten dahin, zu erkennen, ob die Assimilation von atmosphärischem Stickstoff sich direkt in der Kultur von *Bacillus megaterium* nachweisen lasse, falls er sich in verschiedenen Nährmedien von Kohlehydraten und organischen Säuren vorfindet.

Die Apparate waren so arrangiert, daß die Luft zuerst durch den Winkler'schen Absorptionsapparat hindurchstrich, der konzentrierte Schwefelsäure enthielt, dann einen sterilisierte Baumwolle enthaltenden Cylinder passierte, worauf sie durch 2 Kugelapparate geleitet wurde. Im ersten Kugelapparate befand sich sehr verdünnte Schwefelsäure. Aus dem zweiten Kugelapparate führte eine Röhre in einen Erlenmayer-Kolben, in welchem sich die Nährsubstanz mit den Bakterien vorfand. Der Erlenmayer-Kolben mit der Nährsubstanz war wieder mit 2 Kugelapparaten in Verbindung gebracht und diese wieder mit einem baumwollgefüllten Cylinder.

Die Nährsubstanz war folgendermaßen zusammengesetzt: In 100 ccm Wasser befanden sich entweder an Hexosen: d-Glukose, d-Lävulose, d-Galaktose; an Pentosen: l-Xylose, l-Arabinose; an Disacchariden: Saccharose, Maltose, weiter an organischen Säuren: Bernsteinsäure, Citronensäure, Aepfelsäure, Milchsäure, Buttersäure, welche letztere allerdings früher mittels Natriumkarbonat bis zur schwach alkalischen Reaktion neutralisiert waren. Von jeder der

1) Stoklasa, Julius: Biologische Studien über Alinit. (Centralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. IV. 1898.)

benützten Nährsubstanzen wurden 10 g abgewogen, zu welcher Menge 0,01 g Pepton und alle anorganischen Nährstoffe hinzugefügt wurden.

In 100 ccm waren enthalten:

Natriumphosphat	0,025 g
Kaliumsulfat	0,020 g
Natriumkarbonat	0,025 g
Ferriphosphat	0,020 g
Magnesiumchlorid	0,010 g
Calciumchlorid	0,005 g

In jeden Kolben wurden dann noch 2 g Calciumkarbonat hinzugefügt. Die Lösung der Kohlehydrate, der organischen Säuren, sowie der anorganischen Nährmedien wurden stets in größerer Menge bereitet, so daß die Versuche, die 5—8mal wiederholt wurden, stets die gleiche substantielle Zusammensetzung zur Unterlage hatten.

Sämtliche Apparate waren gründlich sterilisiert, dann im Inkubationsstadium belassen und sodann mit einer Reinkultur von *Bacillus megaterium*, die aus Alinit bereitet war, geimpft. Die Apparate befanden sich in der biologischen Kammer bei einer Temperatur von 28—30°C unter vollständigem Ausschluß des Tageslichtes. Durch die Kolben wurde täglich durch 30 Minuten keimfreie Luft getrieben. Neben den oben beschriebenen Apparaten wurden auch Einzelkolben in vollständig harmonischer Zusammensetzung, welche ebenfalls nach gründlicher Sterilisierung geimpft worden waren, beobachtet. Eine andere Partie von Kolben derselben Anordnung wurde einer sofortigen Analyse unterzogen. Ueberhaupt wurden alle notwendigen Kautelen beachtet, nicht nur, um die Menge des Stickstoffes vor der Infektion, sondern auch nach derselben mit der Reinkultur von *Bacillus megaterium* festzustellen. Zur Bestimmung des Stickstoffes wurde die Förster'sche Modifikation der Kjeldahl'schen Methode verwendet.

Und zwar wurde derselbe Kolben mit dem gesamten Inhalt zur Zersetzung mit Salicylschwefelsäure verwendet. Nach vollzogener Zersetzung wurde das Ammoniak in $\frac{1}{10}$ Normal-Schwefelsäure überdestilliert. Diese wird mit $\frac{1}{10}$ Natriumhydroxyd zurücktitriert. Als Indikator wurde Malachitgrün mit Lakmustinktur verwendet.

Wie wir uns überzeugt haben, liefert die Förster'sche Modifikation der Kjeldahl'schen Methode vorzügliche und absolut verlässliche Resultate bei der Abwesenheit der Nitrate. Die Versuche dauerten im ganzen 26 Tage. In den Kolben, durch welche Luft getrieben worden war, war eine kräftigere Entwicklung der Bakterien zu bemerken, als in jenen Kolben, die mit Baumwolle verstopft waren. In dem Nährsubstrat, das organische Säuren (welche, wie sich von selbst versteht, bis zur schwach alkalischen Reaktion mit Natriumkarbonat neutralisiert waren) enthielt, war die Entwicklung der Bakterien eine viel größere, als in der d-Glukose. Die stärkste Entwicklung der Bakterien wurde in der

Saccharose l-Arabinose und dann in der l-Xylose bemerkt. In einer d-Lävulose und d-Galaktose war ein Wachstum von *Bacillus megaterium* nicht wahrzunehmen. Von den organischen Säuren war es namentlich die Milchsäure, wo wir die größte Entwicklung der Alinitbakterien (*Bacillus megaterium*) konstatiert haben.

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Phosphorescierende Tausendfüßler und die Lichtfäule des Holzes.

Von Prof. Dr. F. Ludwig, Greiz.

Während das Leuchten unserer Johanniskäfer und ihrer Larven eine allgemein bekannte Eigenschaft dieser Tiere ist, die hinreichend studiert worden ist und an jedem einzelnen Exemplar beobachtet werden kann, ist es bisher Wenigen vergönnt gewesen, das Leuchten der Tausendfüßler aus der Familie der Geophiliden zu sehen, und die Ursache dieses Leuchtens bedarf noch der näheren Untersuchung. Seit Jahren habe ich mich vergeblich bemüht, des Leuchten des *Geophilus simplex* (= *subterraneus*) Gervais und des *G. longicornis* Leach zu beobachten, von denen der eine bereits von Linné als leuchtend beschrieben und *Geophilus electricus* benannt worden war. Die Tiere, welche ich bei Tag fing und in offenen Gläsern aufbewahrte, leuchteten des Nachts nicht. Um so mehr freute ich mich über eine Beobachtung leuchtender Tiere aus dieser Familie, deren Phosphorescenz ich unter Verhältnissen sah, die uns vielleicht der Erkenntnis des Wesens dieser Erscheinung einen Schritt näher bringen. An der Straße, die von Greiz nach dem idyllisch gelegenen Ida-Waldhaus führt, waren an einem Waldschlag, der von hallimaschkranken Fichten bestanden war, Wurzelstöcke ausgerodet und in Klaftern aufgeschichtet worden. Da das von dem Hallimaschpilz befallene Holz regelmäßig leuchtet, bieten derartige Schläge in finsterner Nacht einen prächtigen Anblick und die Passanten ziehen öfter mit den leuchtenden Holzstücken vom Waldhaus nach Greiz heimwärts, was dem Beschauer wie ein gespenstischer Laternenzug erscheint. Als ich am 1. September vorigen Jahres mit den Herren William und C. Ficke und Oberlehrer Gutgesell den leuchtenden Schlag nachts $\frac{1}{2}$ 11 Uhr bei großer Dunkelheit aufsuchte, trafen wir das Holz der Stöcke, soweit das Hallimaschmycel und seine wurzelartigen Stränge (*Rhizomorpha* und *Xylostroma*) dasselbe durchwuchert hatten, in prächtigster Phosphorescenz und nahmen uns Stücke davon mit nach Hause. Vor uns hatten andere Personen leuchtende Stücke verloren, die noch am Weg leuchteten. Zwischen diesen Stückchen bemerkte ich eine intensiver leuchtende Stelle am Boden, die dann auch meinen Begleitern durch ihren erhöhten Glanz auffiel. Nach Anzünden eines Streichholzes erkannte ich einen Tausendfüßler, der selbst leuchtete und auch auf

dem Weg leuchtende Stellen zurückgelassen hatte. Im Dunkel leuchtete derselbe in meiner Hand weiter, entwischte mir aber wieder und wurde dann noch wiederholt durch sein Leuchten wieder gefunden, entschlüpfte aber abermals aus der Streichholzschachtel, in die wir ihn gebracht hatten. Meine Finger leuchteten an den Berührungstellen noch kurze Zeit. An einer anderen Stelle waren meinen Begleitern Holzstücke entfallen und zwischen ihnen fingen wir ein zweites Exemplar desselben Tausendfüßers, der ebenso intensiv leuchtete, seine Phosphorescenz auch der Schachtel mitteilte. Zu Hause verlor er das Leuchtvermögen sehr bald und war auch in 3-tägiger Gefangenschaft nicht wieder zur Phosphorescenz zu bringen. Eine nähere Bestimmung des Tieres ergab, daß es eine zu den Geophiliden gehörige *Scolioplanes*-Art war. Unsere Beobachtungen stellten also 1) fest, daß das Tier einen leuchtenden Schleim absondert, durch den das Leuchten auf kurze Zeit auch auf andere Gegenstände übertragen werden kann; 2) daß die Tiere nicht immer leuchteten; 3) daß sie aus dem lichtfaulen, vom Hallimaschmycel durchwucherten Holze stammten.

Sehen wir zunächst zu, was sonst über leuchtende Tausendfüßler beobachtet ist, so giebt R. Dittrich (Ueber das Leuchten der Tiere. Breslau 1888) an, das *Orphnaeus brevilabiatus* Hasse = *Scolopendra phosphorea* L. (?), *Geophilus electricus* L., *G. subterraneus* = *simplex* Gervais (Newport), *Scolioplanes crassipes* (Haase) und *Julus* sp. (Ehrenberg) phosphorescieren. „*Scolopendra electrica* (vgl. Kirby, Bach etc. l. c.), sowie auch außereuropäische Tausendfüßler (Coldstream) leuchten am ganzen Körper, wobei sie einen ihre Oberfläche bedeckenden Schleim hervorbringen, welcher auf der Erde als leuchtende Spur zurückgelassen wird (Audouin, Richard). Diesen unbestimmten Angaben stehen folgende neuere bestimmtere gegenüber: Bei *Scolioplanes crassipes* ist nach Dubois der Darmkanal der Sitz des Leuchtens, nach Haase (Indisch-austral. Chilopoden. Berlin. 1887. p. 111/112) dagegen sind es hier, wie bei *Orphnaeus brevilabiatus*, welcher stark leuchtet, die wohlentwickelten Bauchporen, welche das leuchtende Sekret absondern. Macé endlich bezeichnet als Sitz des Leuchtens von *Geophilus simplex* eine Reihe von Punkten, welche in der Nähe der Stigmen, je eines zwischen 2 Beinpaaren an den Körperseiten liegen.“ Henri Gadeau de Kerville (Die leuchtenden Tiere und Pflanzen. Aus dem Französischen übersetzt von W. Marshall. Leipzig (J. J. Weber) 1893) führt als lichtentwickelnd zur Zeit gekannte Arten der Geophiliden an: *Orya barbarica* Grev., *Stigmatogaster subterraneus* Leach, *Orphnaeus brevilabiatus* Newp., *Scolioplanes crassipes* C. Koch und 2 *Geophilus*-Arten, die nach Macé *G. simplex* Gerv. und *G. longicornis* Leach sein sollen. Zuletzt haben Dubois, Macé und Gazagnaire das Leuchtvermögen der Geophiliden untersucht, stimmen aber über den Sitz des Leuchtens nicht überein. „Dubois stellte seine Beobachtungen an einer ziemlich großen Anzahl der leuchtenden

Scolioplanes crassipes, und zwar bei beiden Geschlechtern an. Er fand diese Tiere in der Umgegend von Heidelberg. Die ersten, die er zu sehen bekam, liefen in einem Thal frei über einen von Gemüsebeeten umgebenen Weg; die anderen fanden sich unter Haufen von Kräuterich und Erde an den Seiten dieses Weges und von modernden Blättern in einem Hopfenfeld. Wenn man diese Haufen durchwühlte, so sah man hie und da wahre Leuchtkugeln von einer Stelle aus strahlen und leuchtende Flecke, welche einige Sekunden an den umgebenden Dingen und auch an den sie berührenden Fingern haften blieben, und stets fand man nicht weit davon eine leuchtende *Scolioplanes*. Bei frei herumlaufenden Individuen, welche Dubois in einer trockenen, mäßig warmen, mondscheinlosen Nacht fand, waren die Leuchterscheinungen weit leichter wahrzunehmen. Das Licht, welches diese Tausendfüße von sich gaben, war auf 10 Schritt noch sehr gut zu erkennen und so hell, daß man unmittelbar dabei Druck oder die Zahlen der Taschenuhr unterscheiden konnte. Es hatte einen stärkeren Stich ins Grüne als Phosphor, aber einen geringeren als das der Leuchtkäfer und ging von 2 Quellen aus: Einmal vom Körper der Tiere selbst, dann aber auch von Punkten, die einander sehr nahe lagen, aber doch nicht zusammenhingen und welche die Tausendfüße auf eine Strecke von mehreren Centimetern auf ihrer Marschroute hinter sich ließen. Diese Punkte erloschen bald einer nach dem anderen und keiner leuchtete länger als 10—20 Sekunden. Dubois setzte eine *Scolioplanes* auf ein Stückchen Papier und konnte mittels einer starken Lupe erkennen, daß die von dem Tiere zurückgelassene leuchtende Materie aus sehr kleinen Klümpchen vom Ansehen feiner, durch eine leimige Substanz zusammengeklebten Sandkörnchen bestand. Sie löste sich nur vom hinteren Ende des Körpers ab. Die auf Papier gesetzte *Scolioplanes* schien nur mit einer gewissen Schwierigkeit die am hinteren Teil des letzten Leibesringes glänzenden Körperchen loszuwerden. Dubois konnte konstatieren, daß das Tier in allen Teilen seines Körpers, mit Ausnahme des Kopfes, leuchtet und daß das Licht wirklich ein eigenes sei. Doch ist dasselbe im vorderen und hintersten Leibesabschnitt etwas stärker und anhaltender und glänzt ganz besonders da, wo der Hautpanzer dünn ist. Wenn das Tier nur schwach leuchtet, so zeigt sich das Licht auf einer Strecke, die ihrer Lage und Länge nach dem Verdauungsrohr entspricht. Dubois meint, die leuchtende Substanz finde sich in den Epithelzellen des Darmtrakts und sei ein Absonderungsprodukt desselben.“

Unter gewissen Umständen schien die leuchtende Absonderung durch die Hautporen stattzufinden und der Körper kann leuchten, ohne daß auf seiner Außenseite eine Spur eines Sekretes gewahrt wird. Macé glaubt die Leuchtkraft auf die „präanal Drüsen“ beschränkt und Gazagnaire nimmt bei *Orya barbarica* und anderen Geophiliden an, daß das Leuchten auf einer Hautabsonderung beruht, die in drüsenartigen Organen auf der Bauchseite erzeugt würde und durch Poren nach außen träte (Gadeau de

Kerville p. 70 ff.). Dubois hat nach Mitteilungen vom April 1889 anderwärts den *Scolioplanes crassipes* leuchten sehen in Exemplaren, die aus allen Segmenten eine leuchtende Masse ausschieden, aus dem After wurde kein Sekret abgeschieden; eine Ausscheidung aus Hautdrüsen, wie sie Gazagnaire angiebt, bestreitet er. Leuchtende Exemplare leuchteten zuweilen, wenn sie gereizt wurden, an der ganzen Mittellinie des Körpers. Dubois sucht auch nach seinen neueren Untersuchungen den Sitz des Leuchtstoffes in den Epithelialzellen des Verdauungsrohres, welche die betr. Substanz abscheiden sollen. Diese Substanz soll nur dann, wenn sie in großer Masse vorhanden ist, durch Hautporen oder die Luftlöcher oder durch den Darmkanal nach außen durchsickern können (l. c. p. 162 ff.).

Die vorstehenden Beobachtungen von Dubois und Anderen zugleich mit meinen eigenen ergeben, wie es mir scheint, daß das Leuchten des *Scolioplanes* und Verwandter von äußeren Umständen abhängt und nicht von einem dem Tiere eigenen Leuchtorgan ausgeht. Und zwar ist es mir nicht unwahrscheinlich, daß die phosphoreszierende Substanz, die in dem Hallimaschmycel vorhanden ist und welche auch die Lichtfäule des Holzes erzeugt, in dem tierischen Körper fortleuchtet. Die leuchtenden Tiere, welche wir fanden, lebten in dem lichtfaulen Holz und mögen von dem leuchtenden Mycel des Pilzes oder seinen Ausscheidungen gefressen haben. Die an den Fingern haftende Substanz hörte sehr bald zu leuchten auf, obwohl die Finger noch feucht davon waren. Hätte dieselbe aus Photobakterien bestanden, so würden diese, wie ich aus Erfahrung weiß, bis zum Eintrocknen fortgeleuchtet haben. Ebenso würden die noch lebenden Pilzzellen selbst weiter geleuchtet haben. Besteht also, wie ich vermute, ein ursächlicher Zusammenhang zwischen dem Leuchten des Holzes und dem des *Scolioplanes*, so kann es sich nur um ein Fortleuchten des Zellinhaltes des Hallimaschmycels, der ja auch aus den Zellen ins Holz diffundiert, handeln, und dürften der Verdauungstraktus und die Atmungsöffnungen etc. des Tieres für dessen Weiterleuchten besonders geeignet sein. Da gerade an den Orten des Vorkommens des *Scolioplanes* die sklerotienbildenden Mykomycten, deren Phosphoreszenz ich früher nachgewiesen habe, verbreitet sind, so würde man nur anzunehmen haben, daß sie es sind, welche den leuchtenden Tausendfüßlern (ebenso wie Regenwürmern, Insektenlarven etc., die man alle leuchtend fand) zur Nahrung gedient haben. Diese Vermutung wird verstärkt durch die Thatsache, daß Dubois zur selben Zeit und an derselben Stelle bei Heidelberg wie seine leuchtenden Tausendfüße, leuchtende Springschwänze (wahrscheinlich *Lipura armata* Tullberg) fand (im Humus einer Hopfenplantage — Allmuss fand *Lipura fimetaria* L. leuchten) und daß auch Mycetophiliden (*Ceroplastus sesioides* Wahl) gelegentlich leuchten.

Inzwischen hat auch Herr Dr. Karl Verhoeff, einer der besten Myriopodenkenner, meinen *Scolioplanes* als *Scolioplanes acuminatus* = *crassipes* C. Koch bestimmt. Es ist

also dieselbe Art, die Dubois zuerst bei Heidelberg leuchtend fand. Herr Dr. Verhoeff bestätigt, daß diese Art und andere Chilopoden nur ausnahmsweise leuchten und macht mich darauf aufmerksam, daß an den Beinen von Diplopoden häufig keimende Pilzzellen gefunden werden.

Jedenfalls fordern alle diese Beobachtungen dazu auf, einmal das Verhalten der gelegentlich leuchtend gefundenen Arten von Scolioptanes, Lipura, Lumbricus etc. in Reinkulturen phosphoreszierender Mykomyeten und Photobakterien eingehender zu studieren, und zweitens, das Verhalten der Zellinhalte der letzteren, nach (mechanischer) Zerstörung der Zellen selbst, weiter zu prüfen, etwa mit besonderer Berücksichtigung der neueren Untersuchungen von Marius Otto (Compt. rend. T. CXXIII. 1896. p. 1005 etc. Cf. auch Lafar, Technische Mykologie. Bd. I. p. 149. Jena (G. Fischer) 1897.)

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Kenntnis der Baumflüsse und einiger ihrer Bewohner.

Von Dr. **Wilhelm Holtz** in Freiburg i. Br.

Mit 2 Tafeln und 6 Abbildungen.

(Fortsetzung.)

Die nach den soeben beschriebenen Modifikationen gebildeten Zellen stellen indessen meist noch nicht die Endprodukte der Gonidienentwicklung dar. Die aus der Kontinuität der Hyphe frei gewordenen Gonidien treiben gewöhnlich an ihren Enden schlauchförmige Ausstülpungen („keimen aus“). Hierbei wölbt sich nur ein gewisser Teil der Membran vor, so daß der gebildete Keimschlauch schmaler ist als die Gonidie, aus der er entstanden, es ergeben sich dann oftmals recht bizarre, bajonett- oder retorten-ähnliche Keimformen, denen Ludwig in morphologischer Beziehung viel Gewicht beimißt. Wir glauben kaum, daß diese Erscheinungen im Wachstum die Bedeutung eines charakteristischen Merkmals, das als Kennzeichen für diese Art Verwertung finden könnte, besitzen; ohne Zweifel dürfte bei verwandten Pilzen Ähnliches anzutreffen sein. Späterhin verschwindet indessen der Unterschied in der Breitendimension und wir erhalten dann Formen, wie sie auf Fig. 5 zur Darstellung gelangt sind. Diese pflegen dann durch 1—3 Scheidewände geteilt zu werden und zerfallen bald in ihre Teilungsprodukte, an denen sich dieselben Vorgänge noch einmal abspielen, meist so lange, bis das Nährsubstrat erschöpft ist.

Daß die langen Gonidienformen gewissermaßen nur Uebergangsstadien in der Gonidienentwicklung repräsentieren, läßt sich am besten auf folgende Weise zeigen. Bringt man Gonidien, wie sie aus dem Zerfall des Mycels hervorgegangen, in einen Tropfen irgendwelcher Nährflüssigkeit, z. B. Würze, so wird man schon

nach Verlauf einer Stunde gewahr, daß ein lebhaftes Wachstum eingetreten, indem fast sämtliche Gonidien auf die oben erwähnte Weise Ausstülpungen getrieben und in ihrem Innern Scheidewände gebildet haben, so daß binnen kurzem das ganze Gesichtsfeld unter dem Mikroskop von langgestreckten Formen erfüllt ist, die oft 2—3 Scheidewände aufweisen und deren Enden sich abermals vorstülpeln. Nach Ablauf einer gewissen Zeit aber sehen wir nur noch kurzovale bis rektanguläre Formen äußerst dicht gelagert, von denen noch wenige eine Scheidewand besitzen. Isolieren wir aus der ersten Wachstumsphase einige der erwähnten langen Formen in einem frischen Tropfen Würze, so sehen wir zur selben Zeit, da im alten Tropfen die Entwicklung beendet ist und kurzovale Gonidien vorherrschen, im neuen Tropfen lauter lange Formen, wie sie oben beschrieben, und erst viel später werden

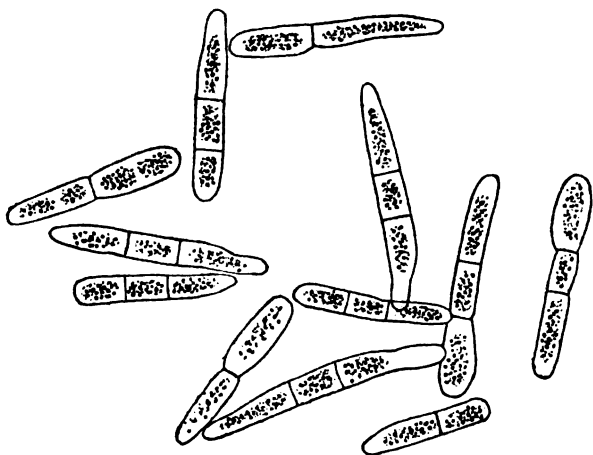


Fig. 5.

aus ihnen die kurzen Oidien gebildet. Bringen wir solche Zwischenstadien, wie wir die langen Gonidienformen jetzt nennen können, in einen Tropfen alter (erschöpfter) Würze, so sehen wir sie rasch in kurze Glieder zerfallen; isolieren wir dagegen letztere auf dieselbe Weise, so schließt die Entwicklung mit der Bildung der Zwischenstadien (langen Formen) ab.

Mit der Einführung des letzteren Begriffs wird dann auch die Behauptung berechtigt sein, daß die Gonidien im allgemeinen nicht direkt in ihrer definitiven Gestalt am Mycel abgegrenzt werden, sondern erst durch wiederholte Zwei- bzw. Dreiteilung primärer Teilungsprodukte entstehen; diese bleiben hierbei im Mycelverbande oder scheiden aus demselben aus. In letzterem Falle tritt meist Wachstum an den freien Enden der Zellen ein durch Ausstreben kurzer, schlauchförmiger Ausstülpungen, was zur Entstehung einer sehr großen Gonidienzahl in relativ kurzer Zeit führen muß.

In Würzelgelatine bleiben die primären Teilzellen gewöhnlich im Hyphenverbände, indessen ist auch hier eine völlige Lostrennung und Wachstum der Zellen an den freien Enden nicht selten (Fig. 6). In flüssigen Nährmedien und in destilliertem Wasser kann die Trennung natürlich leichter von statten gehen und vollzieht sich denn hier auch meist vollständig.

So konnten wir in der Gonidienentwicklung eine Reihe verschiedener Modifikationen konstatieren, deren Gemeinsames aber darin zu suchen ist, daß die Gonidie stets ihren Ursprung von einem mehr oder weniger schlauch- oder hyphenartigen Gebilde nimmt. In manchen Fällen extrem frühzeitigen Zerfalls kann es vorkommen, daß bei der Gonidienentwicklung sich Zelle an Zelle reiht, doch ist dieser Vorgang noch weit verschieden von dem der eigentlichen Knospenbildung, wie er für das Wachstum der Hefen charakteristisch und unter dem Namen Hefesprossung bekannt ist.

Von der Gonidie ausgehend sieht man, daß der Zeitpunkt des Zerfalls in sehr verschiedenen Stadien des ausgekeimten Hyphenschlauches einsetzen kann, indem dieser das eine Mal äußerst kurz bleibt, sozusagen nur auf Gonidienlänge heranwächst, das andere Mal zu einem längeren Faden sich ausbildet, ehe Sistierung des

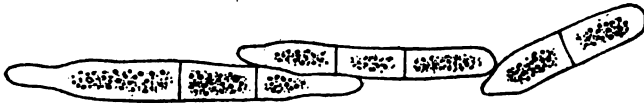


Fig. 6.

Wachstums und Teilung eintritt. Faßt man dabei noch die Fähigkeit des Mycels ins Auge, mehr oder weniger vollständig in Gonidien zu zerfallen, so giebt sich ohne weiteres die Unmöglichkeit zu erkennen, hier zwischen Gonidienbildung und Mycelentwicklung eine feste Grenze zu ziehen.

Die am Ende des Wachstums stehenden Gonidien stellen meist rundliche, kurzovale, eiförmige bis rektanguläre Zellen dar, besitzen anfangs fast homogenen Inhalt, lassen aber bald körnige Gebilde in ihrem Inneren erkennen. Durch die erwähnten Wachstumsprozesse in Verbindung mit vorzeitigem Absterben ergeben sich indessen oft sehr unregelmäßige Formen. Wie die Hyphenzellen, besitzen auch die Gonidien mehrere Kerne, in der Regel zwei.

Mit zunehmendem Alter gehen in den Zellen vielfach Veränderungen vor sich; neben den oben erwähnten körnigen Gebilden treten fett- bzw. öllartige Körper in Form kleiner Tröpfchen auf, die bald zu größeren zusammenfließen und in sehr vorgeschrittenen Stadien manchmal das ganze Zelllumen ausfüllen. Mit Endosporen sind diese Bildungen nicht zu verwechseln, denn abgesehen von ihrer verschiedenen Größe und sehr schwankenden Zahl verschwinden sie bei Zusatz von Aether oder Alkohol, wie Hansen gezeigt hat. Gleichen Schritt mit der Bildung dieser Körper, denen offenbar die Rolle von Reservesubstanzen zufällt,

geht eine mehr oder weniger beträchtliche Verdickung der Membran, dieselbe sticht besonders bei den runden Gonidien in die Augen; das Innere dieser Zellen ist denn meist ganz von jenen fett- bzw. ölartigen Körpern erfüllt, so daß sie Chlamydosporen nicht unähnlich sind. Ludwig bezeichnet diese Bildungen schlankweg als Chlamydosporen, die Frage, inwieweit diese erstmals von van Tieghem eingeführte Bezeichnung hier berechtigt ist, soll nicht in den Bereich der Erörterung gezogen werden. Zweifellos ist, daß alle diese Gebilde sich außer durch ihre Form und Beschaffenheit des Inhaltes auch durch die Art ihrer Keimung von den gewöhnlichen Gonidien unterscheiden, indem an den Keimschläuchen der Zerfall weit später einzutreten pflegt und es infolge davon oft zu ziemlich umfangreicher Mycelentwicklung kommt. Die eben besprochenen Gonidienformen repräsentieren wahrscheinlich Dauerzustände des Oidium, wenigstens sind sie hauptsächlich im eingetrockneten Schleim an Eichen sowie in alten Kulturen anzutreffen, außerdem vermögen sie nachweisbar ihre Keimkraft länger zu bewahren, als die gewöhnlichen Gonidien. Letztere erscheinen mehr geeignet, zur Verbreitung des Pilzes während der Vegetationsperiode beizutragen, falls die vermittelnden Umstände eintreffen.

Wesentliche Abänderungen erleiden die Vorgänge der Gonidienbildung dann, wenn sie sich an altem Mycel abspielen. Hier ist ein großer Teil der Hyphenzellen bereits abgestorben oder doch wenigstens schon bedeutend geschwächt, zu erkennen an dem mehr oder weniger deutlich ausgeprägten Schrumpfungsprozesse, der sich am Zelleibe vollzogen, sowie am geronnenen Zustande, an dem teilweisen oder gänzlichen Verschwinden des plasmatischen Inhaltes. Daneben fallen die noch lebenskräftigen Zellen mit ihrem reichlichen, Öeltropfen führenden Inhalt sofort in die Augen. Infolge dieses abnormen Zustandes alten Mycels kann sich auch die Gonidienbildung in der Regel nicht in der normalen oben erwähnten Weise vollziehen, es kommt, abgesehen von akrogenen, vielfach zu interkalaren Teilungen, deren Produkte mit den abgestorbenen Hyphenzellen gewöhnlich verbunden bleiben, wie überhaupt die Leichtigkeit der Loslösung der Gonidien mit dem Alter des Mycels bedeutend zu schwinden scheint. Wir erhalten dann Bilder, die ganz den Anschein erwecken, als handle es sich hier um Hyphen, die sich zu besonderen Gonidienträgern ausgebildet haben, so z. B. in alten Würzekulturen, wo einzelne noch lebenskräftige Hyphenzellen sich durch wiederholte Querwandbildung und oft enorme Wandverdickung (Taf. II, Fig. 1, 4) zu Gonidienreihen ausgestalten; diese nehmen teils die Spitze der Hyphen ein, teils liegen sie in der Kontinuität derselben. Oder in alten Kartoffelkulturen, wo man oft ein stark verästeltes System von Hyphen erblickt, deren Enden Gonidienreihen tragen (Taf. II, Fig. 2). Es läßt sich hier ein gewisser Einfluß der Konsistenz des Nährsubstrates nicht verkennen, denn auch in alten Gelatinestrichkulturen finden wir ähnliche Bildungen. Besäßen die letzteren einen besonderen morphologischen Wert, dann müßten sie wohl weit

häufiger und regelmäßiger auftreten, als es in der That der Fall ist.

Andere Mißbildungen, für die eine Erklärung nicht so leicht zu finden war, beobachteten wir an Mycel, das aus einer 4 Monate alten Birkensaftkultur stammte und in frische mineralische Nährlösung gelegt worden war. Hier vollzog sich die Gonidienbildung in der Weise, daß in den noch lebenskräftigen Zellen des Mycels zahlreiche Scheidewände in kurzen Abständen auftraten (Taf. II, Fig. 3a, b), so daß die entstandenen Zellen vielfach kaum länger als breit waren. Die Einschnürung an den Scheidewänden kam nur äußerst schwach zur Ausbildung, gleichzeitig wurde der Inhalt durch das Auftreten von Körnern verändert. Zur Loslösung einzelner Zellen kam es dabei so gut wie gar nicht, sondern es wurden höchstens größere Verbände von Zellen frei, die, in frische Nährlösung gebracht, ihr abnormes Wachstum fortsetzten.

In engem Anschluß an die soeben beschriebenen Bildungen, die sich an altem Mycel abspielen, wäre eine weitere Reihe von Erscheinungen, abnormer Gonidienbildung zu behandeln, deren Gemeinsames darin besteht, daß die Gonidien nicht außerhalb, sondern innerhalb der Hyphenzellen auftreten. Der unmittelbare Zusammenhang dieser Erscheinungen mit den oben erörterten Fällen abnormer Gonidienbildung wird späterhin ohne weiteres klar werden.

Gonidien im Innern von Hyphenzellen wurden erstmals von Ludwig konstatiert (1); er beschrieb das Phänomen unter dem Namen endogener oder accessorischer Gonidienbildung und giebt an der Hand von Abbildungen folgende Erklärung (I. p. XXIII): „Es zerfällt der Protoplasmainhalt einzelner Hyphen in rundliche bis längliche mit deutlicher Membran versehene Sporen, die in dem beobachteten Falle 1—2 Fetttropfen enthielten“ oder (27. p. 338): „Häufig findet auch eine endogene Oïdienbildung statt, indem die Membran der Hyphen sich nicht an der Oïdienbildung beteiligt, die durch Teilung des Inhaltes entstehenden Oïdien eine neue Membran bilden und danach in der Zergliederung fortfahren.“

Auch O. Brefeld hat diese Erscheinung an seinem *Endomyces*-Mycel beobachtet; er schreibt hierüber (1. p. 131): „Gar nicht zu verwechseln mit der Ausscheidung von Fetttropfen in den Oïdien ist dagegen eine andere Erscheinung, die man vielfach in den Oïdien-bildenden Mycelfäden bemerkt und die auch Ludwig beschrieben hat, nämlich die gleichsam endogene Bildung der Oïdien innerhalb der Fäden. . . Hier nimmt die Membran der Fäden an der Oïdienbildung keinen Anteil. Die durch Teilung des Inhaltes entstehenden Oïdien bekommen eine neue Membran und fahren dann nach deren Anlage fort, sich zu spalten bis in die letzten Glieder. Das Resultat ist ein Schlauch mit den im Innern reihenweise angeordneten Oïdien, der einem Sporangium mit Sporen so ähnlich sieht, daß man unwillkürlich auf den Gedanken kommt, auch die Oïdienbildung auf Sporangienanlagen ursprünglich zurückzuleiten, die durch Fragmentation, durch fortschreitende Zerteilung nun ihre Sporen direkt ausbilden.“

Vermutlich haben Ludwig und Brefeld dieselben Erscheinungen vor sich gehabt, eine Vergleichung der beiderseits gegebenen Abbildungen läßt es erraten. Bei Hansen finden wir über diese abnorme Bildungsweise der Gonidien keine Mitteilung. Nach der Würdigung indessen, die diese Erscheinungen von seiten der beiden erstgenannten Forscher genossen, dürften sie höheres Interesse beanspruchen, zumal die Resultate der bis dahin vorliegenden Untersuchungen zu der Hoffnung berechtigten, dem *Oidium* eventuell einen Platz im System anweisen zu können.

Das Auftreten von Gonidien innerhalb der Mycelfäden beobachteten wir zum ersten Male an älterem Mycel (aus einer Bouillonkultur stammend). Das Phänomen zeigte sich indessen nur sehr vereinzelt, infolge davon war es uns damals nicht sogleich möglich, die Entwicklung dieser Bildungen zu studieren, und konnte einstweilen nur die Uebereinstimmung mit den von Ludwig und Brefeld beschriebenen Erscheinungen gleicher Art konstatiert werden (Taf. I, Fig. 2). Erst später gelang es uns, die Oïdienbildung innerhalb der Hyphenzellen in größerer Häufigkeit zu erhalten, ohne daß die Kulturmethode eine wesentliche Aenderung erfahren hatte. Die Mycelteile wurden in eine sterilisierte Uhrschale oder in die feuchte Kammer in etwas destilliertes Wasser gebracht. Das Phänomen war dann meist nach 1—2 Tagen in vollem Umfange sichtbar. Jetzt erst war eine eingehendere Untersuchung möglich.

Wie schon Ludwig hervorhebt, unterscheiden sich die Gonidien innerhalb der Fäden in nichts von den exogen gebildeten. Es bestehen dieselben Eigentümlichkeiten der Formgestaltung, es spielen sich im Laufe der Zeit dieselben Veränderungen im Zellinnern ab, und schließlich kann eine nachträgliche Vermehrung der gebildeten Gonidien auf dieselbe Weise Platz greifen, wie wir sie bei den außerhalb abgeschnürten Gonidien beobachteten. Zum Ueberflusse wurde auch noch das Vorhandensein mehrerer Kerne in den eingelagerten Gonidien durch entsprechende Tinktion nachgewiesen (Taf. I, Fig. 3). So war also die völlige Identität der äußerlich und innerlich gebildeten Gonidien zur Genüge festgestellt.

In weitaus der Mehrzahl der Fälle schien die Gonidien enthaltende Hyphenzelle abgestorben, wenigstens war dies aus ihrem Zustande zu schließen (Schrumpfung des Zellkörpers bei teilweisem bzw. gänzlichem Schwinden des Plasmainhaltes. Oft fanden sich noch einzelne geronnene Plasmareste vor. Stets aber zeigte sich eine der beiden anstoßenden Zellen, bisweilen auch beide noch lebenskräftig; sie besaßen reichlichen, meist Oeltropfen führenden plasmatischen Inhalt, normale Dimensionen und etwas derbere Membranen (Taf. I, Fig. 4). Alle diese Beobachtungen, sowie besonders der Umstand, daß die Zahl der in den Hyphenzellen gebildeten Oïdien innerhalb sehr weiter Grenzen schwankte, ließen die von Ludwig und Brefeld ausgesprochene Ansicht über die Entstehung dieser Bildungen etwas zweifelhaft erscheinen. Immerhin waren die vorliegenden Untersuchungen noch nicht imstande, anderweitige Vermutungen bezüglich der Entstehung

der eingelagerten Gonidien zu rechtfertigen. Da gelang es in einigen Fällen, Modifikationen der in Rede stehenden Bildungen aufzufinden, die den Gedanken an eine ganz andere Entstehungsweise sofort nahelegten. Es fanden sich nämlich neben den normal aussehenden Gonidien innerhalb der Hyphenzelle noch Ausstülpungen in letztere vor, die von der angrenzenden lebenskräftigen Zelle ausgingen (Taf. I, Fig. 5). Diese war das Endglied einer Reihe von Zellen, die aus der ursprünglichen Hyphenzelle durch wiederholte Scheidewandbildung unter völliger Wahrung des Zusammenhanges der einzelnen Glieder hervorgegangen war. Daß diese letzteren ihrer Beschaffenheit zufolge zu den gonidienartigen Gebilden gerechnet werden müssen, leuchtet ohne weiteres ein. Die beobachteten Ausstülpungen zeigten keine wesentlichen Unterschiede von denjenigen, deren Auftreten normalerweise mit der exogenen Gonidienbildung verbunden ist. Es war deshalb wohl Berechtigung vorhanden, diese Ausstülpungen nicht als rein zufällige Erscheinungen zu betrachten, sondern ihren Zusammenhang mit den im Innern der Hyphenzelle freiliegenden Oïdien zu vermuten.

Weitere Untersuchungen, deren Zweck es war, die Entstehung, Entwicklung und Veränderung dieser Ausstülpungen im Innern der Zellen zu studieren, ergaben in der That, daß die Erscheinung einer dieser Mutmaßung entsprechenden Verlauf nimmt.

Es wurden in der schon mehrfach erwähnten Weise Kulturen in der feuchten Kammer angelegt und solche Fadenstücke unter dem Mikroskope eingestellt, in welchen dem Zustand ihrer Zellen zufolge (Angrenzen toter Zellen an lebenskräftige) die Entstehung eingelagerter Gonidien zu erwarten war. Die Versuche waren fast sämtlich vom gewünschten Erfolge begleitet, indem es gelang, die Bildung der Gonidien innerhalb der Hyphenzellen aus den eingewachsenen schlauchförmigen Gebilden der Nachbarzellen unter dem Mikroskop direkt zu verfolgen. Auf Taf. I findet sich eine Reihe verschiedener Entwicklungsstadien der Bildung eingelagerter Gonidien in ihrer zeitlichen Aufeinanderfolge am gleichen Objekte kontinuierlich beobachtet.

Fig. 6a (Taf. I) stellt ein Fadenstück dar, in dem eine geschrumpfte, nur noch geringe Reste des ehemaligen Inhaltes aufweisende Zelle an eine noch lebenskräftige grenzt, letztere ist das Endglied einer Zellreihe, die sich aus einer einzigen Hyphenzelle entwickelt hat und deren morphologische Deutung bereits oben erörtert wurde. Von der Scheidewand aus ist ein ziemlich langes hyphenartiges Gebilde in die schwächere, wahrscheinlich tote Zelle eingewachsen, dem offenbar die angrenzende lebenskräftige Zelle Ursprung gegeben. Dicht unter der Insertionsstelle des Schlauches sehen wir ein zweites solches Gebilde in Entstehung als knopfförmige Vorstülpung. Der schon ziemlich gestreckte obere Schlauch hat sich von der Nachbarzelle, aus der er entstanden, durch eine Scheidewand abgegrenzt. Fig. 6b stellt den Stand der Entwicklung nach 2 Stunden dar. Am oberen Schlauche haben sich bereits 3 weitere Scheidewände gebildet. Die stattge-

fundene Einschnürung, Abrundung und Winkelstellung daselbst läßt die baldige Trennung der Zellen erwarten. Inzwischen ist die untere Ausstülpung zu einem kurzen Schlauche herangewachsen. In Fig. 6c (nach Verlauf einer weiteren halben Stunde) hat die Trennung der 3 Scheitelzellen des oberen Schlauches endgiltig stattgefunden, die dritte hat eine Scheidewand gebildet, während der übrige Teil des Schlauches eine vierte Zelle abgeschnürt und sich selbst an der Insertionsstelle abgerundet hat. Desgleichen hat sich der kürzere untere Schlauch abgeschnürt und ist in zwei Teilzellen zerfallen. Die bedeutend größere Scheitelzelle hat sich ihrerseits wieder durch Scheidewandbildung geteilt. Das nächste auf Fig. 6d dargestellte Stadium (nach weiteren 3 Stunden) ist schon beträchtlich weiter vorgerückt. Hier hat sich die Lösung der einzelnen Gonidien vollzogen. Das ganze aus dem oberen (ersten) Schlauche entstandene Zellaggregat hat sich nach vorn verschoben, so daß die zweite kleinere, aus dem unteren Schlauche frei gewordene Gonidie nach oben gerückt erscheint. Die 3 zuerst frei gewordenen Zellen des oberen Schlauches haben durch wiederholte Streckung und Zerfall je 3 Teilzellen gebildet, während die dahinter liegenden beiden offenbar ihr Wachstum sistiert haben. Fig. 6e (nach weiteren 2 Stunden) zeigt sich die Situation im ganzen wenig verändert, die große Endzelle des unteren Schlauches wächst aus und ist auf Fig. 6f (nach $3\frac{1}{2}$ Stunden) in 4 Tochterzellen zerfallen.

Die definitive Lagerung der so in der Hyphenzelle eingeschlossenen Gonidien läßt, wie aus der letzten Figur ersichtlich, ihre Herkunft kaum erraten, und nimmt es nicht Wunder, wenn diese Bildungen für echte endogene gehalten und mit einem riesigen Sporen führenden Ascus verglichen wurden.

In allen beobachteten Fällen ging das Gleiche vor sich. Wir sahen, wie aus der Scheidewand zweier ungleichartiger Zellen ein schlauchförmiges Gebilde in die schwächere, wahrscheinlich abgestorbene Zelle hineinwuchs, sein Wachstum sistierte und durch Querwandbildung und Einschnürung in Gonidien zerfiel, die dann ihrerseits eventuell wieder durch Streckung und Teilung auf die erwähnte Weise sich vermehren konnten. Aus diesen Vorgängen resultierten dann oft Gebilde sehr verschiedenen Aussehens. Maßgebend hierfür war der Zeitpunkt, in dem der eingewachsene Hyphenschlauch bezw. die aus ihm durch Teilung entstandenen Zellen ihr Wachstum einstellten. Die Analogie mit den entsprechenden exogenen Bildungen fällt ohne weiteres in die Augen.

(Schluß folgt.)

Original-Referate aus den Sitzungen gelehrter Gesellschaften.

Nachdruck verboten.

Royal Society, London. Sitzung vom 6. Dez. 1900.

Ueber eine Bakterienkrankheit der Rüben (*Brassica Napus*).

Von M. C. Potter, M.A., F.L.S.,

Professor der Botanik an der Universität von Durham College of Science, Newcastle-upon-Tyne.

Mitgeteilt von Sir M. Foster, Sec. R.S.

Mit 6 Figuren.

Im Herbst, wenn die Thätigkeit der Rübenpflanze hauptsächlich der Anhäufung von Vorratsstoffen zugewendet ist, und die charakteristischen Wurzeln an Größe zunehmen, findet man nicht selten in unserer Nachbarschaft unter den noch im Felde wachsenden Pflanzen einige, deren Wurzeln ganz verfault und von eigentümlichem, widerwärtigem Geruch sind.

Man kann die so erkrankten Pflanzen an ihren herabhängenden, gelben Blättern erkennen, die älteren Blätter zeigen die Krankheit zuerst an. Sie werden schlaff und fallen zu Boden und werden dabei gelb und runzlig. Die zunächst jüngeren Blätter zeigen nach und nach dieselben Anzeichen von vorzeitigem Verfall, und dies geht so weiter, bis auch die jüngsten Blätter an der Spitze zu Grunde gehen. Die Zeitdauer des Blätterzerfalls wechselt natürlich bei verschiedenen Individuen, beträgt aber gewöhnlich 2 Wochen von der ersten Infektion an.

Die Wurzeln dieser Pflanzen zeigen bei der Untersuchung ein sehr charakteristisches Aussehen. Der zerfallende Teil ist von grauweißem oder dunkelbraunem Aussehen und ganz weich anzufühlen. Die Zellmembran hat ihre natürliche Festigkeit und die Zellen haben ihre Elasticität verloren, und durch den Austritt des Zellsaftes sind die Gewebe in einen weichen, wässerigen Brei verwandelt. Bei der eigentümlichen, hier besprochenen Krankheit ist der ergriffene Teil von weißer Farbe; daher habe ich sie unter dem Namen „Weißfäule“ (white rot) beschrieben, denn meine Untersuchungen haben bewiesen, daß diese Form der Fäulnis von einem spezifischen Organismus herrührt, der, wenn er eine Wurzel ergreift, diese eigentümliche Färbung hervorbringt. Die braunen und anderen Verfärbungen, die man an ähnlich erkrankten Wurzeln findet, rühren wahrscheinlich zum Teil von diesem Organismus in Verbindung mit anderen her, aber es ist mir noch nicht gelungen, die „Braunfäule“ zu kultivieren; dies bleibt fernerer Untersuchungen vorbehalten.

Die Krankheit kann auf gesunde Wurzeln leicht übertragen werden, da es genügt, einen schwachen Einschnitt zu machen und ein wenig von der verfaulten Masse darauf zu streichen; der Zerfall beginnt sogleich. Binnen 24 Stunden zeigen die vorher gesun-

den Zellen der geimpften Stelle die charakteristische Veränderung von Form und Farbe bis zur Tiefe von 0,6 ccm, und deuten so den Fortschritt der Zerstörung an. Beobachtet man die Pflanze weiter, ohne sie zu verletzen, so bemerkt man, daß die Rinde in der Umgebung der Wunde allmählich weich und hellfarbiger wird; die Entfärbung breitet sich aus, die älteren Blätter senken und verfärben sich, nach und nach geht die ganze Blätterrosette zu Grunde, und die ganze Wurzel wird zu einer weichen, fauligen Masse, welche dann zusammenbricht und nach einem Regenguß fast ganz verschwindet, ganz wie es mit den Pflanzen geht, die man zerfallend auf dem Felde findet. Die sorgfältigste mikroskopische Untersuchung hat in der faulenden Masse keine Spur von Hyphen höherer Pilze finden können, sondern nur eine schwärmende Masse von Bakterien. Die Gewebe sind völlig desorganisiert (s. Fig. 1), die Zellen trennen sich voneinander längs der Mittellamelle, die Zellwände sind weich, angeschwollen und schwach gestreift, auch das Protoplasma hat seine natürliche Farbe verloren, ist bräunlich geworden und hat sich zusammengezogen, so daß es nicht länger in enger Berührung mit der Zellwand ist.

In der Absicht, zu untersuchen, ob die Bakterien die Ursache der Fäulnis sind, und in diesem Falle den besondern Organismus zu isolieren, der sie verursacht, wurde eine Reihe von Kulturen unternommen.

Zuerst wurde eine aus Rüben bereitete Nährbrühe bereit. Stücken von Rüben werden fein geschnitten, mit Wasser in einem Becher bedeckt und gedämpft, bis sie weich waren; dann wurden sie durch ein Tuch gedrückt und die Flüssigkeit filtriert. Zu der so gewonnenen hellgelben, klaren Flüssigkeit wurden 5 Proz. Gelatine hinzugefügt, und die Mischung dann gedämpft (steamed), filtriert und in Probierröhren gefüllt, die vorher mit Watte verstopft und eine halbe Stunde lang einer Temperatur von 140° C ausgesetzt worden waren. Diese Probierröhren, von denen jedes ungefähr 10 ccm von der Brühe enthielt, wurden dann an 3 aufeinander folgenden Tagen eine halbe Stunde lang gedämpft, und als weitere Probe auf ihre vollständige Sterilisierung bei 20° C einige Tage lang bebrütet. Es entwickelten sich keine Kolonien. (So oft Probierröhren mit Nährgelatine erwähnt werden, ist zu verstehen, daß alle auf diese Weise zubereitet wurden, und keine angewendet worden ist, die nicht dieser Probe unterworfen worden wäre.) In einigen Fällen wurde die Brühe neutralisiert, in anderen ließ man ihr die natürliche Säure des Zellsaftes; aber später fand es sich, daß die mittels der Phenolphthaleinprobe durch Natriumhydrat neutralisierte Koch'sche Brühe die besten Resultate gab, und diese wurde dann immer benutzt.

Zur Trennung der verschiedenen Organismen, die sich in der fauligen Masse befanden, wurde ein steriler Platindraht in die Rübe eingeführt (der verfaulte Teil bot keinen wesentlichen Widerstand), und dann in die Probierröhre (A) getaucht, die ungefähr 10 ccm von der flüssigen Nährgelatine enthielt. Von dieser wurde auf ähnliche Weise eine Oese in eine zweite Probierröhre (B)

übergeführt, und so fort, bis ein hinreichender Grad von Verdünnung erreicht war. Die Röhrcn wurden gut umgeschüttelt und dann in Petri'sche Schalen, *a*, *b* . . . *g* entleert. Diese wurden in einen kühlen Brutschrank gestellt, wo sich die Kolonien entwickeln sollten. In *a* und oft in *b* bedeckte sich die ganze Oberfläche mit so dicht wachsenden Kolonien, daß sie zur Isolierung unbrauchbar waren; aber in den anderen waren die Kolonien weniger zahlreich und hinreichend voneinander getrennt, so daß man die Organismen voneinander absondern konnte. Die auffallendsten Kolonien waren die, welche die Gelatine verflüssigten; von den nicht verflüssigenden war *Micrococcus candidans* und eine Hefe wegen ihrer Häufigkeit am bemerkenswertesten; aber von den höheren Pilzen fand sich keine Spur. Dann wurden die Kolonien mittels eines Platindrahtes in Probierröhren übertragen, die ungefähr 10 ccm Nährgelatine enthielten und nach zahlreichen Versuchen hatte ich die Genugthuung, Reinkulturen zu besitzen.

Die verschiedenen, so erhaltenen Organismen wurden mittels eines vorher erhitzten Platindrahtes auf sterile, aber lebende Rübenstücke ausgesät. Zur Zubereitung dieser Rübenstücke wurden sie zuerst gewaschen und dann in 1-proz. Sublimatlösung getaucht, um alle an der äußeren Oberfläche befindlichen Organismen zu zerstören und dann das Sublimat mit durch mehrmaliges Kochen sterilisiertem Wasser gründlich entfernt. Dann wurde die Rinde mit einem sterilen Messer abgeschält, die Rübe auf einem sterilen Teller in passende Stücke zerschnitten und diese schnell in die Probierröhren gebracht. Auf diese Weise behandelt, waren die Rübenstücke ganz steril und bestanden aus gesunden, lebenden Zellen, wie durch drei Reihen von Kontrollröhren nachgewiesen wurde. In der ersten Reihe waren die so behandelten Stücke in gekühlte flüssige Nährgelatine getaucht, in der zweiten in steriles Wasser. In keinem Falle entwickelten sich Kolonien, wenn die Stücke ganz oder teilweise untergetaucht waren, und nach 8 Tagen hatte sich kein Zeichen von Zerfall gezeigt. In der dritten Reihe waren der Stücken einfach in die Röhren gebracht und in feuchter Luft gehalten worden. Bei der mikroskopischen Beobachtung fand man, daß in der äußeren Schicht von unbeschädigten Zellen Zellteilung stattgefunden hatte, und das Gewebe der Zellen hatte normales und ganz gesundes Aussehen.

In den Röhren mit den inokulierten Stücken zeigten einige nach 12 Stunden vorgeschrittenen Zerfall, und alle, in denen Fäulnis auftrat, wurden sorgfältig notiert.

Nach wiederholten Experimenten und einer langen Reihe von Kulturen gelang es mir, ein Bakterium zu isolieren, das Gelatine verflüssigt, und wenn es auf sterile Stücke von lebender Rübe ausgesät wurde, die charakteristische, oben beschriebene, Weißfäule hervorbrachte.

Die Isolierung des Bakteriums auf diese Weise wurde ferner bestätigt durch Anstechen der Kolonien mit Unna's Harpune. Kleine Kolonien von ungefähr 15 μ , die in Petri-Schalen

wuchsen, wurden ausgewählt und mit der Harpune in Petri-Schalen übertragen, welche sterile Rübenbrühe enthielten. Es wurde eine besonders feine Harpunennadel benutzt, aber ihre Spitze war noch größer, als diese sehr kleinen Kolonien, und erst nach einiger Übung gelang die Ueberpflanzung gut. Die ausgewählten Kolonien waren solche, die vereinzelt wuchsen und aus einem einzigen Bakterium entstanden zu sein schienen, um womöglich zu vermeiden, daß die Nadel mehr als eine berührte. Da aber auch diese kleinen Kolonien aus mehr als einem Bakterium entstanden sein konnten, wurde ein einzelnes Bakterium ausgewählt und seine Entwicklung in der unter dem Mikroskop befestigten Schale verfolgt, bis die Kolonie zur Ueberpflanzung groß genug war. Hängende Tropfen wurden auch benutzt. Ein Tropfen Gelatinebrühe aus einer sehr wenig Bakterien enthaltenden Probierröhre wurde auf ein steriles Deckgläschen gebracht, dieses umgekehrt auf eine sterile, wachsende Zelle gelegt und unter dem Mikroskop beobachtet. Wegen die Bakterien zu zahlreich waren, wurde das Präparat entfernt und Versuche gemacht, bis man einen hängenden Tropfen mit nur einen oder zwei Bakterien bekam. Die wachsende Zelle wurde nun unter das Mikroskop gebracht, so daß man ein einzelnes, ausgewähltes Bakterium beobachten und das Wachstum der Kolonie wahrnehmen konnte. Wenn die Kolonie groß genug war, wurde das Deckgläschen schnell umgekehrt und die Kolonie mittels einer feinen U n n a 'schen Harpune in eine Petri-Schale übertragen. Auf diese Weise erhielt man aus einem einzigen Bakterium entstandene Reinkulturen, die immer die charakteristische Weißfäule hervorbrachten; so blieb kein Zweifel, daß dieses Bakterium der einzige mit dieser Krankheit in Verbindung stehende Organismus war.

Reinkulturen wurden auch mit ganz demselben Resultat auf Pflanzen ausgesät, die im Garten des Kollegs wuchsen. Der Zerfall begann an der Stelle der Infektion und verbreitete sich schnell durch die gesunden Wurzeln, wobei dieselbe weiße, faulige Masse entstand.

Das Bakterium kann durch viele Generationen als Saprophyt leben, ohne seine Virulenz als Parasit zu verlieren. Man erhielt einen Vorrat am 10. Sept. 1898 aus einer weißfaulen Rübe von einem Feld bei Newcastle, isolierte ihn in demselben Monat, und nachdem er durch verschiedene Kulturen in Probierröhren gegangen war, stellte man ihn endlich am 29. April 1899 beiseite. Am 23. August wurden im Kolleggarten 2 gesunde Rüben ausgewählt, und während sie noch wuchsen, wurde der über der Erde befindliche Teil mit Sublimat und dann mit sterilem Wasser gewaschen. Dann wurde mit einem sterilen Messer eine Wunde gemacht und ein wenig von der Kultur aus einer der seit dem 29. April ungestört gebliebenen Kulturröhren mittels eines Platindrahtes eingebracht. Dann wurden die Rüben mit einem Cylinder aus Zink bedeckt, und als sie 5 Tage später untersucht wurden, war die Fäulnis tief in die Gewebe eingedrungen, die größere Hälfte der Wurzeln war gänzlich verfäult, mit allen charakteristischen Zeichen der „Weißfäule“.

Um die Wirkung des Bakteriums genau festzustellen und zu bestimmen, ob es ein Ferment hervorbringt, das ähnlich wie das verschiedener parasitischer Pilze auf die Zellwand einwirkt, wurde die Methode der Niederschlagung durch Alkohol angenommen. Eine Literflasche wurde verstopft, sterilisiert und dann ungefähr zur Hälfte mit sterilisierten Rübenstücken gefüllt, zu denen ein kleines Stück gefügt wurde, worauf eine Reinkultur des Bakteriums ausgesät worden war; dann wurde ein wenig sterilisierten Wassers hinzugegeben, die Flasche möglichst schnell verschlossen und dann gut umgeschüttelt, um die Bakterien zu verteilen. Nach 24 Stunden zeigten viele von den Stücken die charakteristische Wirkung des Bakteriums und nach 3 oder 4 Tagen war fast der ganze Inhalt verfault.

Der nächste wichtige Schritt war die Trennung der Bakterien von ihren Produkten; der Inhalt der Flasche wurde herausgenommen und durch ein Tuch in einen Glaszylinder ausgedrückt, um die gröberen Teile abzusondern. Dann wurde die trübe Flüssigkeit filtriert und darauf mit ihrem 4- bis 5-fachen Volumen Alkohols verdünnt, fast unmittelbar nach der Hinzufügung des Alkohols bildete sich ein wolkiger Niederschlag und nach 24 Stunden wurde ein reichliches, flockiges Präcipitat abgesetzt. Nach dem Filtrieren wurde der Niederschlag mit absolutem Alkohol ausgewaschen, getrocknet, sorgfältig gesammelt und dann mit destilliertem Wasser ungefähr 3 Stunden lang digeriert. Dann wurde die Lösung durch eine Pasteur-Chamberland'sche Kerze filtriert, die in einem Maassen'schen Bakterium-Filtrum befestigt war. Auf diese Weise wurde eine klare, blaß strohgelbe, bakterienfreie Flüssigkeit erhalten. Wenn die Flüssigkeit in sterile Probierröhren gegossen wurde, blieb sie für immer klar, aber, der Luft ausgesetzt, wurde sie bald trübe. Es wurden 10 solcher steriler Proberöhren zubereitet, von denen 5 über dem Bunsen'schen Brenner zum Kochen erhitzt wurden; die anderen 5 wurden nicht erhitzt. Von sterilen Rübenstücken wurden mit einem in kochendem Wasser erhitzten Rasiermesser in sterilem Wasser dünne Schnitte abgetrennt und schnell sowohl in die gekochte, als in die nicht erhitzte Flüssigkeit eingebracht. Die Wirkung der nicht gekochten Flüssigkeit war sehr deutlich. Fig. 1 zeigt einen Durchschnitt durch eines dieser Präparate nach 24-stündiger Einwirkung; die Zellwand ist geschwollen und gestreift und so stark erweicht, daß es sehr schwer war, den Schnitt zu behandeln und auf den Objektträger zu bringen. Man sieht deutlich, daß die Wände ihre natürliche Festigkeit und die Regelmäßigkeit des Umrisses verloren haben; sie sind stellenweise bauchig und ausgedehnt. Die Auflösung der Zellen ist sehr augenfällig längs der Mittellamelle, und das ganze Aussehen des Schnittes entspricht ganz dem, was man an verfaulten, dem Felde entnommenen Rüben beobachtet. Die in der gekochten Flüssigkeit enthaltenen Schnitte zeigten nichts von dem hier beschriebenen Aussehen, und die Zellwände waren vollkommen normal geblieben. Offenbar secerniert das Bakterium ein Enzym, das die Mittellamelle auflöst und die Anschwellung und Erweichung der Zellwand ver-

ursacht. Fig. 2 stellt eine einzelne Zelle von einem 16 Stunden lang in die filtrierte, nicht gekochte Flüssigkeit eingetaucht gewesenen Schnitte dar. Fig. 3 zeigt eine solche nach 40-stündiger Eintauchung. Die Dicke der Wände beträgt $2\ \mu$ resp. $5,3\ \mu$. (Ich

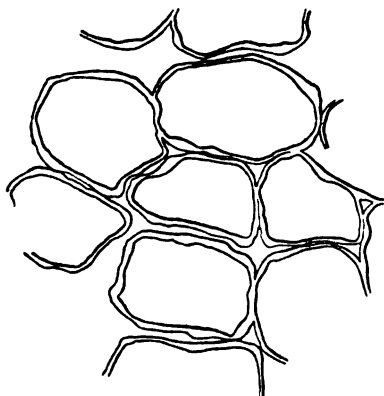


Fig. 1.

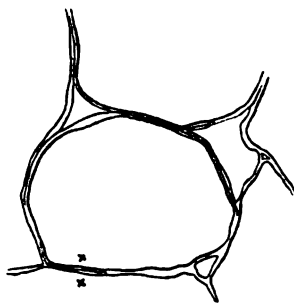


Fig. 2.

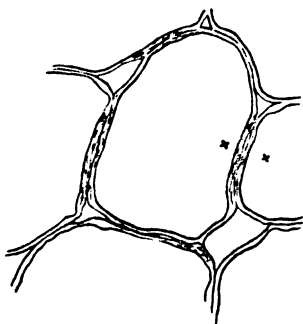


Fig. 3.

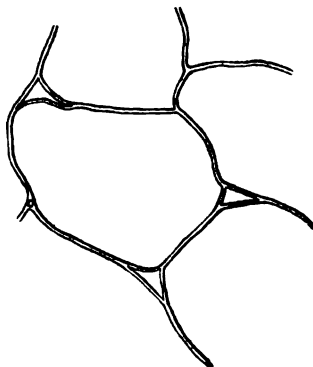


Fig. 4.

Fig. 1. Gruppen von Zellen aus einem Rübenschnitt, der der Wirkung der Cytases 24 Stunden lang ausgesetzt war. Die Zellwände sind angeschwollen und von unregelmäßigem Umriß, und die Zellen trennen sich längs der Mittellamelle. (Zeiß E, Ok. 2.)

Fig. 2. Eine 16 Stunden lang in eine nicht gekochte Lösung der Cytase eingetaucht gewesene Zelle. Dicke der Zellwand $2\ \mu$ bei x x. (Zeiß E, Ok. 2.)

Fig. 3. Ein 42 Stunden lang in eine nicht gekochte Lösung von Cytase eingetaucht gewesener Schnitt. Wanddicke $5,3\ \mu$ bei x x. (Zeiß E, Ok. 2.)

Fig. 4. 42 Stunden lang in eine Lösung von Cytase eingetauchter Schnitt, deren Kraft durch Kochen zerstört worden war. Zellwände ganz normal. (Zeiß E, Ok. 2.)

muß hier bemerken, daß diese Schnitte außer der Jahreszeit aus alten Rüben erhalten wurden, bei denen die Wände resistenter sein mußten, und dies würde die relativ langsame Entwicklung erklären. In Schnitten aus mehr saftigen, wachsenden Rüben

schwollen die Wände in 24 Stunden von $2\ \mu$ zu $7\ \mu$ an. In Fig. 4 ist die Zelle einem Schnitte entnommen, die 40 Stunden in der gekochten Flüssigkeit gelegen hatte. Die Zellwand ist nicht merklich verdickt, oder sonst verändert.

Die Wirkung des Enzyms in der zerfallenden Pflanze zeigte sich auch, als man den Saft von der zerquetschten Pulpa direkt durch eine Pasteur-Chamberland-Kerze filtrierte, wobei die Wirkung auf die Zellwand genau dieselbe war, wie die bei dem wässerigen Extrakt des alkoholischen Niederschlages beschriebene.

Das Bakterium secernirt ebenfalls das Enzym, wenn es in Rindfleischbrühe wächst. Kleine Flaschen mit 100 ccm Rindfleischbrühe, mit Reinkultur geimpft, wurden in 24—36 Stunden trübe. Nach 8 Tagen wurde die Flüssigkeit filtriert und mit seinem 5-fachen Volumen Alkohols verdünnt, worauf sogleich ein Niederschlag erschien. Nach 12-stündigem Stehen wurde das Präcipitat auf einem Filter gesammelt, getrocknet und dann mit 10 ccm destillierten Wassers digeriert. Nach dem Filtrieren durch eine Pasteur-Chamberland-Kerze wurden dieselben Experimente angestellt, wie die obigen, mit Schnitten von steriler Rübe und dieselben Resultate erhalten. Die Flüssigkeit besaß die Fähigkeit, die Mittellamelle aufzulösen und die Erweichung und Anschwellung der Zellwand hervorzubringen. Die ganze Wirkung des Ferments wurde durch Kochen zerstört.

Um das langweilige Filtrieren durch die Chamberland-Kerze und die Sterilisierung des Apparats zu vermeiden, wurden verschiedene Versuche gemacht, um die Lösungen durch Reagentien, wie Chloroform, Thymol, Formalin u. s. w. aseptisch zu machen. Aber dies Verfahren mußte aufgegeben werden, weil nach 24 Stunden in allen diesen Fällen sich noch lebende Bakterien fanden, das Verfahren also hier Vertrauen verdiente.

In den früheren Stadien der Untersuchungen wurde die Filtration — außer wenn die Entfernung der Bakterien nötig war — durch gewöhnliches Filtrierpapier bewirkt. Da die Menge des Präcipitats geringer war, wurde der Teil des Papiers, auf dem es sich abgesetzt hatte, herausgeschnitten und mit Wasser digeriert. Aber um jede mögliche Wirkung des Enzyms auf das Papier zu vermeiden, wurde später immer Kieselguhr benutzt. Einige Glasstückchen in der Spitze des Trichters, mit etwas Asbest bedeckt, verhinderten das Hindurchgehen der Kieselguhr, und die Luftpumpe lieferte den nötigen Druck, um die Filtration zu bewirken.

Das filtrierte Extrakt aus der verfaulten Rübe enthält auch ein diastatisches Ferment. 2 Probierröhren, jede 5 ccm des gelösten Ferments enthaltend, erhielten eine Zugabe von 5 ccm einer 1-proz. Stärkeemulsion, nachdem eine der Röhren vorher gekocht worden war. Nach 24 Stunden zeigte die Röhre mit dem nicht gekochten Ferment mit Jod keine Stärkereaktion, die gekochte ergab sogleich die charakteristische Blaufärbung.

Aehnliche diastatische Enzyme wurden von mehreren anderen Bakterien abgesondert (Lafar). (Schluß folgt.)

Referate.

Wortmann, J., Untersuchungen über das Bitterwerden der Rotweine. [Arbeiten der pflanzenphysiologischen Versuchsstation in Geisenheim a. Rh.] (Landwirtschaftl. Jahrbücher. Bd. XXIX. 1900. p. 629—746. Mit 3 Tafeln.)

Trotz mannigfaltiger Untersuchungen ist die in manchen Jahren überaus häufige und verderbliche Krankheit des Bitterwerdens der Rotweine bisher nicht genügend aufgeklärt. Im allgemeinen folgen die Handbücher den Angaben Pasteur's über diese Krankheit, der dieselbe einem spezifischen Organismus, einem Bacillus, zuschreibt. Derselbe wird indes nicht genügend charakterisiert. Von dem Bakterium, das das Umschlagen der Weine bewirkt, soll er sich nach Pasteur durch größere Dicke, größere Deutlichkeit der Gliederung in Einzelzellen und durch Inkrustierung mit Farbstoff in vorgerückten Stadien unterscheiden. Auch die Autoren, welche nach Pasteur über das Bitterwerden der Rotweine gearbeitet haben, standen im allgemeinen unter dem Banne der Pasteur'schen Anschauung. Es ist indes niemals gelungen, gesunden Rotwein durch Infektion mit krankem, bacillenhaltigem bitter zu machen, und so darf die Pasteur'sche Ansicht bis heute noch nicht als bewiesen gelten. Pasteur selbst unterscheidet neben der durch sein „Bitterferment“ hervorgerufenen Krankheit noch eine zweite Art des Bitterwerdens, die ohne Bakterienwirkung erfolgt, und die er ausschließlich auf rein chemische Ursachen (Einwirkung des Sauerstoffes) zurückführt.

Während Pasteur nur ein relativ geringes Material an kranken Rotweinen zu Gebote stand, hatte Wortmann eine große Zahl (19) solcher zur Verfügung, so daß es ihm möglich war, durch vergleichende Untersuchung der Trubs dieser Weine das Zufällige vom Gesetzmäßigen zu sondern. Das Facit dieser mikroskopischen Untersuchungen ist das, daß Bakterien verschiedener Art und Gestalt wohl in Menge im Trub bitterer Weine vorkommen können, ebensowohl aber auch in anderen Fällen fehlen. Andererseits können gleich gestaltete Bakterien in Masse vorhanden sein, ohne daß der Wein im geringsten bitter ist. An dem Auftreten des bitteren Geschmackes sind sie also unschuldig. Die bitter schmeckenden Stoffe („Bitterstoffe“) sind zunächst im Wein gelöst, können aber auch, meist gleichzeitig mit großen Mengen Rotweinfarbstoff, durch sich bildende Ausscheidungen eiweißartiger Natur mit zu Boden gerissen werden. Die so gebildeten „Bitterkörnchen“ sind löslich in Alkohol und Säuren, auch im Mundspeichel. Sie lösen sich auch wieder bei Erhitzen des Weines. Mit dem Ausscheiden der Bitterkörnchen verliert der klare Wein seine Bitterkeit. Löst man sie durch Erhitzen wieder, so schmeckt auch der Wein wieder bitter. Das Umschlagen der Farbe (Braun- oder Rotbraunwerden), das bei bitteren Weinen oft zu beobachten ist, hat eben so wenig wie die Bakterien etwas mit dem Bitter-

werden zu thun, ist vielmehr eine Krankheit eigener Art, da es bittere Weine von durchaus gesunder Rotweinfarbe giebt, und wird nur durch dieselben Umstände herbeigeführt, welche auch das Bitterwerden zur Voraussetzung hat. Beim Bitterwerden wirkt nämlich zweifellos in letzter Instanz der Luftsauerstoff mit; es scheint, als ob der letzte Prozeß beim Bitterwerden ein Oxydationsvorgang ist. Luftdicht verschlossene Flaschenweine werden daher nicht bitter.

Die in bitteren Weinen oft angetroffenen Bakterien haben also nichts mit der Krankheit selbst zu thun. Ihr häufiges Vorkommen hängt jedenfalls damit zusammen, daß die Berührung mit Sauerstoff, welche in letzter Instanz beim Bitterwerden mitwirkt, auch das Gedeihen der Bakterien begünstigt.

Duclaux sowohl wie Pasteur konstatierten eine wesentliche Vermehrung der fixen und flüchtigen Säure beim Bitterwerden. Ihre Untersuchungen verlieren jedoch dadurch an Wert, daß sie mit bakterienhaltigen, also an zwei Krankheiten leidenden Weinen arbeiteten. Neubauer fand denn auch in dem von ihm untersuchten Falle nur eine minimale Säurezunahme, dagegen eine wesentliche Abnahme des Gerb- und Farbstoffes. Aber auch er arbeitete mit bakterienhaltigem Wein. Doch sprechen auch andere Umstände dafür, daß die chemisch leider trotz ihrer Wichtigkeit gänzlich unbekanntes sogenannte Gerbstoffe beim Bitterwerden eine Veränderung erleiden, daß unter ihnen die Muttersubstanz der Bitterstoffe zu suchen ist. Daher leiden auch gerade die besonders gerbstoffreichen Rotweine an der Krankheit, der Weißwein im allgemeinen überhaupt nicht. Nur bei Weißweinen, die sehr lange mit den Hülsen und Kämmen in Berührung blieben und dadurch viel Gerbstoff aufgenommen hatten, hat Neßler sehr starkes Bitterwerden beobachtet.

Aber nicht alle gerbstoffhaltigen Rotweine werden bitter. Es muß also noch ein anderes Moment hinzutreten. Schon A. d. Mayer hat 1869 vermutungsweise auf eine Beteiligung der Schimmelpilze beim Bitterwerden hingewiesen. Durch Erfahrungen der Praxis und besonders durch den Umstand, daß gerade Jahrgänge mit notorisch starker Traubenfäule besonders stark und häufig erkrankt sind, wurde Wortmann in dieser Ansicht bestärkt. Die Versuche bestätigten dieselbe voll und ganz. Gesunder Rotwein, durch Kochen vom Alkohol befreit und gezuckert, später wieder vergoren, wurde durch die Einwirkung von *Botrytis cinerea* deutlich bitter, und als gesunde und faule Trauben gesondert gemischt und vergoren wurden, erwies sich der Wein als um so bitterer, je mehr faule Beeren in die Maische gekommen waren. Nach diesen Ergebnissen unterliegt es keinem Zweifel, daß durch *Botrytis*, wahrscheinlich auch durch andere Schimmelpilze (*Penicillium*, *Dematium*, *Racodium cellare*), die Gerbstoffe derart verändert werden, daß sie durch den Luftsauerstoff zu Bitterstoffen oxydiert werden können. In welcher Weise die Umwandlung der Gerbstoffe vor sich geht, bleibt dabei zunächst unentschieden. Die Fälle, wo Rotweine gleich beim Abkeltern deutlich bitter schmecken,

weisen darauf hin, daß möglicherweise die Schimmelpilze schon während ihrer Vegetation auf den Beeren direkt oder indirekt Bitterstoffe zu erzeugen vermögen. Aber auch auf dem Faß und selbst auf der Flasche ist der Wein immer noch den Angriffen von Schimmelpilzen, die auf der Faßwand resp. den Stopfen wuchern, ausgesetzt, und so erklären sich höchst wahrscheinlich die Fälle, in denen der Wein erst auf dem Lager oder in der Flasche bitter wurde. Der Sauerstoff hat ja ebenfalls durch Faßwand und Stopfen Zugang zum Wein. Jedenfalls ist es sehr unwahrscheinlich, daß in solchen Fällen ein anderer, spezifischer Weinorganismus das Bitterwerden hervorrufen sollte.

Ueber den Einfluß des Sauerstoffes auf bitter gewordene Weine liegen einander scheinbar widersprechende Mitteilungen vor. Nach den einen soll Lüften den bitteren Geschmack verstärken, nach den anderen entfernen. Das erstere erklärt sich nach Wortmann's Erklärung des Bitterwerdens ohne weiteres, wenn das Bittersein noch im Anfangsstadium ist, da durch Lüftung mehr Bitterstoff gebildet wird. Ist aber aller dazu taugliche „Gerbstoff“ in Bitterstoffe übergeführt, so wird eine weitere Lüftung andere Oxydationsvorgänge zur Folge haben, infolge deren sich die körnchenförmigen Niederschläge, die Bitterkörnchen, bilden, die Verf. wohl mit Recht als Verbindungen von Eiweißkörpern mit den gerbstoffartigen Bitterstoffen deutet.

Ein sicheres Vorbeugungsmittel gegen das Bitterwerden würde das Pasteurisieren des gesunden Weines bilden, während man naturgemäß bereits bitter gewordenen Wein damit nicht heilen kann. Die Heilung erfolgt durch Umgären mit frischen Trestrern oder mit Reinhefe. In einzelnen Fällen half bereits eine Schönung mit Eiweiß. Die beste Vorbeugungsmaßregel besteht im Herbst möglichst gesunder Trauben. Sollte dann doch am Jungwein sich Neigung zum Bitterwerden zeigen, so könnte man ihn sofort umgären. Um die Flaschenweine davor zu bewahren, genügt vollständig luftdichter Abschluß des Stopfens mittels Flaschenwachs.

Die 3 Tafeln geben sehr instruktive Bilder von einer Anzahl der untersuchten Trubs. Behrens (Weinsberg).

Magnus, Werner, Studien an der endotrophen Mykorrhiza von *Neottia Nidus avis* L. (Jahrb. f. wissenschaft. Bot. Bd. XXXV. Heft 2. Taf. IV, V, VI.) [Sep.-Abdr.] 68 p. Leipzig (Gehr. Bornträger) 1900.

Die Zellpathologie war bisher fast ausschließlich von zoologischer Seite in Angriff genommen werden, erst in jüngster Zeit haben französische und italienische Forscher: Cavares, Dangeard, Molliard einzelne isoliert stehende Kernveränderungen pathologischer pflanzlicher Gewebe bekannt gemacht. Verf. hat sich die Aufgabe gestellt, Untersuchungen über das gesamte Gebiet pflanzlicher Hypertrophieen und Hyperplasieen, die unter natürlichen Bedingungen vorkommen, vorzunehmen, zumal solche, die sich auf das cytologische Verhalten der Cecidien erstrecken. Er hat dabei eine ungeahnte Mannigfaltigkeit von Veränderungen, zumal des

ruhenden Zellkernes, vorgefunden, die in engster Beziehung zu der gesamten Biologie der Erscheinung stehen. Die vorliegende Arbeit erörtert eingehend die betreffenden anatomischen und biologischen Verhältnisse an einem speziellen Fall, der Mykorrhiza von *Neottia nidus avis*. Zwar macht gerade hier das meist völlig undurchsichtige Plasma die Untersuchung so schwierig, daß Janse das Studium solcher saprophytischen Pflanzen als ausichtslos bezeichnet hat, doch setzte die ausgiebige Benutzung der Mikrotechnik den Verf. über diese Schwierigkeit fast ganz hinweg. Die Arbeit wurde in den beiden letzten Jahren im Bonner botanischen Institut Strasburger's und in dem Berliner botanischen Institut Schwendener's ausgeführt. Die vorzüglichen Figurentafeln wurden vom Verf. und dessen Schwester, Fräulein Magda Magnus ausgeführt.

Kapitel I. Der Pilz. Schacht und Prillieux haben zuerst den eigentümlichen, zuerst von Schleiden beobachteten Inhalt der Rindenzellen in der Wurzel von *Neottia nidus avis* als Pilz erkannt. Reincke unterschied Schleim und Pilzfäden in den infizierten Zellen und 2 Sorten Schleim in den Wurzeln der Orchideen. Drude wies auf die Konstanz des Auftretens des Pilzes und seine Lokalisierung hin und Pfeffer, der das bestätigte, fand darin eine Anpassung an die Nahrungsaufnahme der Orchideen. Mollberg hat die Pilze der Orchideenwurzeln vergleichend untersucht und Wahrlich, der im de Bary'schen Institut ca. 300 Orchideen untersuchte, beschrieb den Zusammenhang zwischen den Klumpen und dem Pilz. Frank gab sodann neue anatomische Details und deutet das Vorkommen von Pilzen auch für die Orchideenwurzeln als Symbiose, Janse versuchte auf Grund der ungenügenden Resultate Wahrlich's eine Systematik der Orchideenmykorrhizen. Dangeard und Armand konstatierten für *Ophrys arachnifera* die Beteiligung des Pilzes bei der Klumpenbildung, Chodat und Lendner untersuchten das Mycel in *Listera cordata*. Zuletzt untersuchte Mac Dougal zahlreiche Orchideen, ohne wesentlich Neues beizubringen.

Infektion, Jugendzustand in der Zelle; Hautstoriensfrage. Die Wurzeln von *Neottia nidus avis* L. sind, sobald sie ca. 1 cm erreicht haben, ausnahmslos von einem Pilz bewohnt, der ausschließlich innerhalb der Zellen in 3—4 konzentrischen Zellschichten des Rindenparenchyms lebt. Die 1—2-schichtige Epidermis und die erste subepidermale Schicht sind nicht oder doch nicht regelmäßig davon befallen; ebensowenig dringen die Hyphen weiter in das Rindenparenchym hinein oder gar in den Centralcylinder der Wurzel. Während die Wurzel so den Pilz streng lokalisiert, ist die Infektion im Rhizom, das stellenweise im Alter ganz pilzfrei ist, und im Stengel nicht fest geregelt. Im Rhizom können von der ca. 14 Zelllagen dicken Rinde bis 6 Lagen infiziert werden, die sich aber in Größe und Form von den nicht infizierten nicht unterscheiden, am Stengel werden bei zu geringer Höhe die 5 ersten Zelllagen unregelmäßig infiziert. Auch bei *Lecanorchis javanica*, wo nur 2 Zelllagen den Pilz enthalten

fand Janse den letzteren an der Wurzel lokalisiert. Bei allen anderen Orchideen können dagegen fast alle Rindenzellen infiziert werden; doch bleibt auch hier der Centralcylinder pilzfrei. Die wenigen Stellen in der Epidermis, die Hyphen enthalten, sind nur als Infektionsstellen anzusehen, eine regelmäßige Verbindung nach außen stellen sie nicht dar, haben daher auch entschieden keine ernährungs-physiologische Bedeutung. Fruktifikationen, Fusicladien, fand Verf. ebensowenig wie Sporangiolen und Vesikel, die anderen Mykorrhizen eigen sind. Für ein neugebildetes Wurzelorgan ist die Infektion von außen nicht die gewöhnliche, sondern das früher infizierte Organ infiziert stets das neue.

Die in die Zelle eingedrungenen Hyphen verzweigen sich und durchziehen die Zelle regellos nach allen Richtungen, ohne von einem Teil der Zelle besonders angezogen zu werden. Es ist dies besonders hervorzuheben, da Rosen bei *Puccinia asarina* auf *Asarum europaeum* gefunden hatte, daß die als Haustorien dienenden Hyphenäste auf den Kern der Nährzelle zuwachsen und sich an ihn anschmiegen, und man geneigt war, das als allgemein gültige Regel anzusehen. Man war geneigt, in dem Kern das Centrum der metabolischen Ernährungstätigkeit zu sehen. Bei *Neottia* wachsen die Hyphen, als ob gar kein Zellkern vorhanden wäre, und auch bei den parasitären Pilzen ist es dem Verf. unzweifelhaft, daß die Haustorien wie auf den Zellkern, so auch auf jeden anderen zufällig in der Zelle befindlichen festen Körper (Stärke etc.) zuwachsen und wohl nur die Aufnahme der festen Bestandteile der Zelle bezwecken. — Die „krampfartigen“ Verzweigungen und Buckelungen, die häufig, wenn auch keineswegs nur in der Nähe der Kerne auftreten, dürften nicht als für die Nahrungsaufnahme bestimmte oder geeignete Bildungen des Pilzes zu betrachten sein, sondern ebenso wie die „Sporangiolen“ so vieler endotrophen Mykorrhizen (mit Ausnahme der Orchideen) Degenerationsprodukte des Pilzes darstellen, die von der Pflanzenzelle erzogen werden, um von ihr später aufgelöst und zu ihrer Ernährung verwendet zu werden. Der Nutzen dieser Gebilde ist auch bei parasitären Pilzen nicht auf Seite des Pilzes, sondern auf der der Wirtspflanze zu suchen. Der chemische Reiz, durch den die Pflanze resp. der Zellkern den Pilz veranlaßt, in dieser Form zu degenerieren, ist, wie es scheint, eine wichtige Waffe im Kampf der Zelle gegen den Parasiten, während es sich anfänglich nur um eine Abwehr des Pilzes durch die Degeneration handelte, ist daraus ein anderer für die Pflanze nützlicher Vorgang geworden, indem der Pilz zur Bildung von Sporangiolen gezwungen wird, die der Pflanze nun selbst zur Nahrung dienen.

Die Differenzierung ohne Degeneration. Die Zone einer wachsenden Wurzel, in der die Pilzhypen die Zellen gleichmäßig und anscheinend regellos durchqueren, besteht nur aus wenig Zelllagen und kann bei ausgewachsenen Wurzeln ganz fehlen. Dann sind nur noch die Resultate einer Differenzierung des Pilzes

zu sehen. In typischen Fällen sieht man in solchen Zellen auf medianem Längsschnitt durch die Wurzel Ringe oder Kränze von Hyphensträngen, die der Zellwand nahe verlaufen, oder sie umkreisen bei isodiametrischem Zellquerschnitt die Zelle hohlkugelförmig. Es sind die erst später gebildeten Verzweigungen der anfänglich eingewanderten Hyphen. Da sie durch ihre kolossale Oberflächenvergrößerung zur Nahrungsaufnahme besonders geeignet erscheinen, werden sie als „Haustorienhyphen“ bezeichnet. In den von der Wurzelspitze entfernteren Zone treten neue Erscheinungen auf. Oft beginnen die ringbildenden Hyphen allseitig oder einseitig nach innen auszusprossen. In älteren Wurzelteilen fanden sich dazu noch verschiedene Formen der Berindung der Hyphen durch andere sie umwachsene und miteinander verquellenden Hyphen. Die mittlere Hyphe kollabiert nicht, während die dieselbe umringenden Hyphen zuletzt völlig zu einem Mantel verquellen, so daß der Durchmesser der ganzen Hyphe ihr Lumen etwa 5mal übersteigt. Wenn am Ausgang der Vegetationsperiode, etwa im September, die feinen Hyphen in den Zellen absterben, bleiben nur noch die Ringhyphen. Geht dann die Wurzel in Fäulnis über, so bleiben allein jene umringelten Hyphen am Leben. Da sie das einzige sind, was von dem sonst abgestorbenen Pilz wieder ins Freie gelangt, sind sie als Dauerzustände — Cysten, Sklerotien — anzusehen, die die Aufgaben haben dürften, in ihrer dichten Umhüllung zu überwintern und im Frühjahr neue Neottiapflanzen zu infizieren. — Die Zellen, welche jene dickwandigen Hyphenringe und Knäuel feiner mittlerer Zellen besitzen, in denen der Pitz nie degeneriert, sondern bis zuletzt am Leben bleibt, werden vom Verf. als „Pilzwirtzellen“ bezeichnet.

Die Differenzierung mit Degeneration. Nach dem Jugendzustand treten noch häufiger als die Differenzierungen in der „Pilzwirtzelle“ Modifikationen der Hyphen ein, welche ihren Höhepunkt in der hekannten Klumpenbildung finden. Die Hyphen verzweigen sich weiter und weiter, auch jetzt ohne Beeinflussung durch den Zellkern, bis in die ganze Zelle von einem dichten Hyphenknäuel erfüllt ist. Sie bleiben dünnwandig, scheidewandarm und enthalten meist zahlreiche mit Anilinfarben stark färbbare Körperchen, wahrscheinlich in Chromatolyse befindliche Pilzkerne. Meist fallen sie in diesem Zustand der Degeneration durch das Plasma anheim, in selteneren Fällen füllen sie sich zuvor ganz und gar mit eiweißhaltigen Substanzen. In ziemlicher Nähe der Wurzelspitze enthalten die vom Pilz bewohnten Zellschichten bei Neottia große durchscheinende gelbe Klumpen mit oder ohne Hyphen. Diese Klumpenbildung geht bei Neottia so vor sich, daß zunächst die ringsum vom Plasma umgebenen Hyphen kollabieren, indem sie nach und nach ihres Inhaltes beraubt werden. Ihre Wände verquellen; es treten Vakuolen auf, die die Hyphen nach der Mitte der Zelle zusammendrängen; ihre Reste zusammen mit den celluloseartigen Umwandlungsprodukten und Ausscheidungen des Zellplasmas bilden zuletzt die Schleimklumpen, die sich von dem Salepschleim

der Orchideen durch optische Inaktivität und durch ihre charakteristischen Färbungen mit Chlorzinkjod und ihr Verhalten konzentrierter Schwefelsäure oder alkoholischem Kaliumhydroxyd gegenüber unterscheiden. Die aus beiden Symbionten gebildeten Klumpen bestehen aus den exkrementierten Resten und sind durchaus tote Gebilde, die nie weitere Veränderungen erleiden; ihre Bildung ist bei allen anderen Orchideen entsprechend. Die Zellen, in denen die Degeneration der Pilzhypphen stattfindet, die dann ihres Inhaltes beraubt und in Umhüllung in einem Klumpen ausgeschieden werden, bezeichnet Verf. als „Verdauungszellen“.

Die Verteilung der Pilzwirt- und Verdauungszellen. Dem scharfen Unterschied in der Ausbildung dieser beiden Zellen entsprechen die festen Normen ihrer Verteilung in der Wurzel: Die Zellen der mittleren der drei pilzbewohnten Rindenschichten sind Pilzwirtzellen, die der äußeren und inneren Schicht Verdauungszellen. Dabei folgt aus den Untersuchungen des Verf.'s, daß der Pilz völlig indifferent in die Zelle wächst und erst dort in Reaktion auf gewisse Reize sich so oder so differenziert. Im Rhizom und am Stengel konnte entsprechend der unregelmäßigen Infektion keine Ordnung in der Verteilung beider Zellen gefunden werden, und schienen im Rhizom die Pilzwirtzellen zu überwiegen. Klumpen der Verdauungszellen fanden sich nie im Stengel, auch fehlten sie in manchen alten Rhizomen.

Die Anordnung in der *Neottia*-Wurzel — zwei Schichten Zellen mit Klumpen und in ihrer Mitte eine klumpenlose Schicht — ist von besonderem Interesse. Für viele andere Orchideen, wie von Janse für *Myrmecis* und *Lecanorchis*, von Mac Dougal für *Goodyera* und *Cypripedium*, von Vaughan Jennings für *Corallorrhiza* vom Verf. für *Orchis*, *Listera* und andere Erdorchideen wurde festgestellt, daß die typische Klumpenbildung auf die inneren Rindenschichten beschränkt ist. Janse zeigte ferner allgemein für die von ihm beschriebenen Organe der Mykorrhiza-bildenden Pilze: Hyphen, Vesikel (dickwandige, terminale Cysten) und Sporangien, daß sie nacheinander tiefer in der Wurzel gebildet werden, ohne an bestimmte Zellreihen gebunden zu sein. Janse unterschied 4 Zonen: eine von den in die tieferen Schichten eindringenden Fäden durchzogene, die zweite mit verzweigten Hyphen und Vesikelbelag, die dritte mit feineren Hyphen und Sporangien und die vierte pilzfreie. Betrachtet man Sporangien und Klumpen als gleichwertige Organe, so passen auch die Orchideen in dieses Schema. Ein Vergleich der infizierten Wurzeln von *Orchis*, *Listera ovata*, *Platanthera bifolia*, *Cypripedium spectabile* zeigt, daß der *Neottia*-pilz alle die Differenzierungen in höherer Ausbildung besitzt, die die vergleichbaren Orchideen nur in der Anlage aufweisen. Bei *Neottia* ist das Gleichgewicht zwischen beiden Symbionten stabil, letztere sind in streng gesetzliche Beziehung getreten, aber nur in den Seitenwurzeln, nicht in Rhizom und Stengel.

Ein anderer Parasit. Verf. fand in allen Altersstufen der Wurzeln schwarze, unregelmäßige Flecken, die scharf von der gelbbraunen Grundfarbe abstachen. Sie rühren von verfärbten Wänden von Zellen her, die von einem von dem Mykorrhiza-bildenden erheblich unterschiedenen Pilz herrühren. Der letztere, von dem Fruktifikationsorgane nicht gefunden wurden, ist ein Parasymbiont, dessen Hauptnahrung in den Klumpen besteht. Die Stoffe, die für die Pflanze und den Mykorrhiza-Pilz unbrauchbar sind, werden von diesem dritten Organismus ausgenützt, ohne daß jenen ein erheblicher Schaden zugefügt wird.

Kapitel II. Neottia. Der Gesamtbau. Die ausnahmslose Infektion der Neottia-Wurzeln setzt einerseits einen hohen Grad der Anpassung der Wurzel an die Symbiose voraus, andererseits vermag die Anwesenheit des Pilzes direkte Modifikationen hervorzurufen, die jenen erblich erworbenen als jedesmal wieder wirkende Einflüsse gegenüberzusetzen sind. Ob zu letzteren das Fehlen der Wurzelhaare gehört, ist zweifelhaft, da dies eher als ein Verhalten im feuchten Medium zu deuten sein dürfte. Im direkten Zusammenhang mit der Mykorrhiza-Bildung ließ sich in der Zellgröße der typisch pilzbewohnten Wurzelzellen nachweisen (die Zellen des Rhizoms und Stengels zeigen die Differenzen nicht). Weiter fehlen bei Anwesenheit des Pilzes in der Wurzel die Raphidenzellen vollständig und werden keine Salepzellen ausgebildet. Das begrenzte Wachstum der Wurzel, die höchstens 6 cm lang wird und der büschelig vogelnetzartige Typus des Wurzelsystems sind gleichfalls Erscheinungen, wie sie auch bei anderen Mykorrhizen wiederkehren.

Das Protoplasma. Mit dem Eindringen des Pilzes fängt das Protoplasma an, sich energisch zu vermehren, indem es zugleich ein trüberes Aussehen annimmt, ähnlich wie bei dem Eindringen rein parasitärer Pilze. Der Pilz bleibt dann fortdauernd von Plasma umgeben. Erst mit dem Tod des Pilzes befördert die lebenskräftige Zelle die toten Pilzreste zusammen mit einem Teil des anhaftenden Plasmas aus sich heraus, was an eine bereits mechanisch gewordene Verkettung beider Symbionten denken läßt. Bei Neottia wird in den Verdauungszellen der durch und durch mit Pilzfäden durchwucherte Zelleib wieder zurückverwandelt in den völlig pilzrestefreien lebenden Protoplasmaschlauch mit seinem großen Safttraum; in ihm liegt aber jetzt der tote Klumpen mit den unverdauten Pilzresten. Bei anderen Orchideen kann der Klumpen sogar völlig aus dem Safttraum herausbefördert werden. Bei den Verdauungszellen bildet der Protoplast die Form einer Hohlkugel, in deren Centrum — also völlig außerhalb des Protoplasten — der Klumpen liegt. Bei den Verdauungszellen bleibt der Primordialschlauch bis zuletzt relativ gut plasmolysierbar, verliert aber diese Fähigkeit in den Pilzwirtzellen ziemlich früh. „Es scheint, als nähmen ihm in der That die, das Plasma nach allen Seiten durchsetzenden Pilzhyphen seinen zur Plasmolysierbarkeit notwendigen festen Zusammenhang, und als läge hier ein Fall vor, wo selbst die Plasmolyse versagt, das Leben des Plasmas festzustellen.“

Cellulosebildung. Bei Anwesenheit des Pilzes tritt ein Vorgang ein, der als normale Erscheinung nur bei wenigen Pilzen bekannt ist — eine Cellulosebildung innerhalb der Zelle von der Wand getrennt und unabhängig von der Hautschicht, nämlich in den Klumpen. Viele Klumpen, die von Plasma umgeben bleiben werden, auch noch nachträglich wie z. B. bei *Cephalanthera*, von einer pilzrestlosen Membranschicht eingeschlossen — eine schützende Abgrenzung des Plasmas gegen den Fremdkörper, die aber nur in kräftigen Zellen eintritt, wenn die Cellulose lösende Kraft des Pilzes der Cellulose-bildenden der Zelle die Waage hält.

Die Stärke. Die Angabe, daß die pilzbewohnten Zellen der endotrophischen Mykorrhizen der Orchideen keine Stärke enthielten, ist bei *Neottia* nicht ganz zutreffend. Bei Neuinfektion einer Zelle werden vielmehr stets zahlreiche kleine Stärkekörner gebildet; die Stärke verschwindet aber sehr bald und tritt in den Verdauungszellen erst wieder auf, wenn der Pilz im Klumpen exkrementiert. Die Stärkekörner sind dann aber meist vielfach zusammengesetzt, während die gewöhnliche Stärke der Rindenzellen einfach oder sehr wenig zusammengesetzt ist.

Der Kern. Die jungen, ruhenden Kerne der Wurzelspitze von *Neottia* zeigen in ihrem Chromatingerüst das gewöhnliche Bild sehr feiner Maschen, deren Knotenpunkte sich zu größeren Körnchen verdicken, und enthalten ein oder zwei nicht allzugroße Nukleolen und ziemlich große, durch Safranin färbbare, umhohlte, unorganisierte Proteinkristalle (die bei der Teilung verschwinden). In älteren Zellen wird nur der Kern erheblich größer, weitere Aenderungen treten nicht ein. Anders in der infizierten Wurzel: Ohne daß sich der Kern wesentlich vergrößert, treten durch das ganze Gerüstwerk immer größere und größere Chromatinkörnchen auf, während andere verschwinden, so daß das Netzwerk weitmaschiger wird. Die Körner wachsen heran und sind durch starke Fäden verbunden, die ihnen ein sternförmiges Aussehen geben. Zuletzt werden auch diese Fäden eingezogen und das Gerüst besteht nur noch aus abgerundeten, wenig zahlreichen Chromatinballen, die einen ihrem Durchmesser ungefähr gleichen Zwischenraum zwischen sich freilassen. Während dieser Ballung hat der Umfang des Kernes beträchtlich zugenommen. Nach dem „Ballenstadium“ tritt rasch noch eine weitere Aenderung ein: Die Grundsubstanz färbt sich sehr dunkel und es treten überall kleine Chromatinkörnchen auf, während die großen Ballen sich verkleinern. Der Kern wird länglich und nimmt Bretzel- oder Lemniscaten-ähnliche Formen an.

Von nun an ist zwischen dem Entwicklungsgang der Kerne der Verdauungszellen und der Pilzwirtzellen zu unterscheiden. In den Verdauungszellen erhält der Kern ein amöboides Aussehen und kann zur Fragmentierung fortschreiten, die Struktur wird grobkörnig flockig, ein fädiges Netzwerk fehlt und es treten größere runde Chromatinkugeln (bis 8 an der Zahl) auf. Der Kern tritt dann durch Lage und Form in engste Beziehung zur Klumpenbildung. — In den Pilzwirtzellen rundet sich der

Kern ab, oder zeigt durch sehr geringe Verzweigungen nur schwache Bewegung an. Seine Struktur ist anfangs gleichfalls großkörnig-flockig, nimmt aber nicht wie bei den Verdauungszellen eine feinkörnige Chromatinstruktur in dunkler Grundsubstanz an. Später bekommt er ein schwach färbbares feines Chromatingerüst, dem große unregelmäßige Chromatinballen und Körner eingelagert sind. Bald wird er eckig und faltig, ohne aber an amöboide Bewegungen zu erinnern. Oft ist er von Hyphen eingeschnürt. Im Alter wird er kleiner und chromatinärmer, bis er oft ganz verschwindet. Die Erscheinungen sind so charakteristisch, daß man allein vom Kern aus entscheiden könnte, ob eine Pilzwirtzelle oder Verdauungszelle vorliegt.

Verf. vergleicht noch das Verhalten der Kerne bei *Orchis maculata* und *Listera ovata*.

Zur Deutung der Kernveränderungen. Die Strukturveränderungen des Kernes bestehen in einer Lageänderung und Zunahme des Chromatins, wie sie in der Litteratur, außer bei der indirekten Kernteilung in den gefütterten Drüsenzellen von *Drosera* beschrieben worden sind. Sind auch Ballung und Kernteilung nicht zu identifizieren, so machen es verschiedene Gründe doch wahrscheinlich, daß die Chromatinansammlung in den verpilzten Orchideenwurzelzellen in der That morphologisch den Anfängen der indirekten Teilung an die Seite zu setzen sind. „Man könnte sich vorstellen, daß in ähnlicher Weise, wie die Substanzvermehrung der Kerne sicherlich zum großen Teil der auslösende Reiz für die Mechanik der indirekten Kernteilung ist, auch hier dieser Reiz sich bemerkbar macht, aber möglicherweise in ganz bestimmter zweckentsprechender Anpassung, ein Teil des komplizierten Mechanismus versagt, die Teilung nicht zu stande kommt, und hierdurch dann die hypertrophierten und hyperchromatischen Zellkerne entstehen.“ In der Struktur der hyperchromatischen Kerne kommen die individuellen Eigenschaften der Kerne scharf zum Ausdruck. Während bei *Neottia* und *Listera* große Chromatinkugeln durch den ganzen Kern verstreut sind, tritt bei *Orchis* das Chromatin nur in Strängen auf; ebenso ist die Struktur hypertrophierter Kerne anderer Pflanzen schon im Normalzustand vorgebildet, wie dies die Arbeiten von Peters, Rosen, Zacharias dargethan haben.

Bei den großen unregelmäßigen Massen von Chromatin, die in den Pilzwirtzellen ausgeschieden werden, handelt es sich wohl um Absterbeerscheinungen.

Die biologische Bedeutung der hyperchromatischen Kerne der Verdauungszellen wird durch Vergleich mit den sonst bekannten Hyperchromatien erkennbar. Hyperchromatische Kerne treten normalerweise auf in keimenden Samen (*Lupinus*, *Cucumis*), Geleitzellen (*Cucurbita*), Tapetenzellen, Endospermzellen, Exkretionszellen, gefütterten Absorptionszellen von *Drosera*, also in allen Fällen starken Stoffumsatzes eiweißhaltiger Substanzen. Sicherlich liegt eine Hauptbedeutung der Kernveränderungen der Verdauungszellen in der Nahrungsaufnahme,

doch ist die innige Beziehung zu einem anderen Prozeß der Ausscheidung und Umwandlung des Plasmas in die Membranstoffe des Klumpens nicht zu verkennen.

Kapitel III. Das Zusammenleben. So sonderbar es klingt, so sind doch, obwohl eine typisch mutualistische Symbiose mit sichtbarem Vorteil für beide Teile vorliegt, die Veränderungen des Pilzes und der Pflanze nur Episoden eines erbitterten Kampfes.

Die Verdauungszellen. Der Protoplast der Verdauungszellen ist ein heimtückischer Gegner des Pilzes, der sein Zerstörungswerk erst dann beginnt, wenn sich die Zelle mit dichtem Pilzknäuel erfüllt hat. Der Pilz wird verhindert, die starke Membran zu bilden, wird getötet, verdaut, und seine unbrauchbaren Teile werden exkrementiert. „Welche Anstrengungen aber die Pflanzenzelle machen muß, seiner Herr zu werden, wie sie auch dann noch mit dem Pilz quasi kämpfen muß, kann aus der ins Kolossale gesteigerten Aktivität der Kerne geschlossen werden.“ Der Verdauungsvorgang ist dem der insektenfressenden Pflanzen durchaus vergleichbar, nur ist er intracellulär. Daß die Verdauung des Pilzes in den Zellen nicht eine unbedeutende Nebenverrichtung ist, nachdem die Hauptnahrungsaufnahme schon vorher vor sich gegangen, geht daraus hervor, daß der Pilz in den Verdauungszellen ausnahmslos und direkt getötet wird, und daß sich die „Verdauungszellen“ in jeder Beziehung als typisch nahrungsaufnehmende Zellen erweisen. Bedeutsam erscheint es auch, mit welcher Allgemeinheit solche mit dichter Nährsubstanz erfüllten hypertrophierten Organe bei fast sämtlichen endotrophen Mykorrhiza-Pilzen auftreten und schließlich von der Pflanze resorbiert werden (vergleiche auch die Bakteroiden der Leguminosen, die Eiweißbläschen der Erle, die „Sporangiolen“ fast aller Mykorrhiza). Der Pilz muß erst degenerieren, ehe er von der Pflanze ausgenutzt werden kann.

Ist somit erwiesen, daß Frank Recht hatte, wenn er die Orchideen als pilzverdauende (pilzfressende) Pflanzen bezeichnete, und ist durch den Verf. dargethan worden, daß die nur spärlich und unregelmäßig nach außen tretenden Hyphen unmöglich als Absorptionsorgan anzusehen sind, so kann auch der Pilz nur in der Pflanze selbst alle Nahrungsstoffe finden. „Die Produkte, die die Pflanze ihm entnimmt, waren also dieselben, die sie selbst aus dem Substrat aufgenommen hat, die Funktion des Pilzes in der Zelle wäre nur, diese Stoffe in seinem Körper dissimilatorisch oder assimilatorisch umzuändern, jedenfalls für die Pflanze nutzbar zu machen. In dieser Beziehung verhielte sich der Pilz wie die Bakteroiden der Leguminosen oder der Wurzelpilz von *Alnus*, die gleichfalls durch das Plasma der Wirtszellen von der Außenwelt getrennt sind (nach der herrschenden Meinung allerdings auch nur gasförmigen Stickstoff aufzunehmen haben).

Die Pilzwirtzellen. In den auf beiden Seiten von den Verdauungszellen eingeschlossenen Pilzwirtzellen scheint sich die Zelle nach wenigen Bewegungen der Uebermacht des Pilzes zu

fügen. Der Kern wird kleiner und kann schließlich gänzlich atrophieren. Diese Zellen haben nach des Verf.'s Erörterungen für die Wirtspflanze keinen Nutzen, sie gewähren dem anderen Symbionten, dem Pilz, alleinigen Vorteil, zwar tötet der Pilz wohl die Pflanzenzellen, wie der Protoplast in den Verdauungszellen den Pilz, er findet aber in ihnen Nahrung, Schutz und Sicherheit der Fortpflanzung (Dauerhyphen), während er dafür in den anderen einen Teil opfern muß. Wenn aber den Pilzwirtzellen bei der hochdifferenzierten *Neottia* diese Bedeutung zugeschrieben werden muß, so dürfte auch der Pilz in den peripherischen Pilzzellen anderen Orchideen, der bisher als Leitorgan zwischen Substrat und inneren Pilzzellen angesehen wurde, nur parasitischer Natur sein. Da hier die peripherische Lage der Hyphen und ihre Außenverbindung viel leichter einen Rücktritt aus der parasitischen Lebensweise in die saprophytische, aus der sie sicher hervorging, gestattet, so brauchen einzelne Zellen dem Pilz nicht völlig geopfert werden, wenn sie auch zum Teil schon die Funktionen der Pilzwirtzellen haben.

Der Gesamtorganismus. Im Gegensatz zu dem heftigen Kampfe der in jeder Einzelzelle des Mycorrhiza von *Neottia nidusavis* gekämpft wird, ist das Gesamtbild der Mycorrhiza ein Muster von Gesetzmäßigkeit und Ordnung. „Wie in einem einheitlichen Organismus, ist genau vorgesehen, welche Zellen pilzbewohnt sind, und in welchen von ihnen der Pilz die Oberhand gewinnen soll.“

„Für *Neottia* laufen alle Anpassungen in ihren Hauptzügen darauf hinaus, in bestimmten Zellen einen Pilz zur späteren Verspeisung zu ziehen, und in anderen möglichst abgesondert gelegenen Zellen dem Pilz eine gesicherte parasitäre Lebensweise zu ermöglichen.“

In welchen chemischen Qualitäten diese Vorteile bestehen, das konnten diese anatomischen Untersuchungen nicht positiv unterscheiden, nur konnte die Wahrscheinlichkeit der vorhandenen Theorie geprüft werden, und neigt Verf. am meisten der Vermutung zu, daß es sich um Nutzbarmachung stickstoffhaltiger Bodenbestandteile, etwa um die Assimilation von Ammoniaksalzen handelt, die für die meisten Pflanzen eine weit schlechtere Stickstoffnahrung sind, als Salpetersalze, die gerade im Waldboden öfter nur spärlich vorkommen.

F. Ludwig (Greiz).

Woods, Albert, F., Stigmonose. A disease of carnations and other pinks. (Departm. of Agricult.; Division of vegetable physiology and pathology. Bulletin No. 19.)

Verf. erbringt den Nachweis, daß die als Bakteriose beschriebene Nelkenkrankheit nicht durch Bakterien oder Pilze verursacht wird. Infektionen mit dem als pathogen beschriebenen *Bacterium Dianthi* führten niemals zu positiven Resultaten. Die Krankheit wird vielmehr von Aphiden erzeugt, durch deren Stiche das Blattgewebe zu krankhaften Veränderungen angeregt und verfärbt wird.

Daß auf den erkrankten Stellen sich Bakterien ansiedeln können, bleibt dabei natürlich nicht ausgeschlossen.

Verf. schlägt als neuen Namen für die Krankheit „Stigmonose“ vor. Aehnliche Krankheitsbilder wie die Aphiden rufen auch Spinnen, sowie Thrips an Nelken hervor.

Die Aphiden lassen vermutlich in die von ihnen gestochene Wunde Gift einfließen — Säure oder Ferment — das innerhalb der infizierten Zellen eine Vermehrung der oxydierenden Fermente herbeiführt.

Küster (Halle a. S.).

Nicolai, Karl, Heinr., Bakteriologische Untersuchungen über Wurzeln und Samen von Hedysarum coronarium. [Inaug.-Diss.] Erlangen 1900. 8°. 34 p.

In dieser bakteriologischen Studie wird bewiesen, daß in den untersuchten Wurzeln von Hedysarum coronarium echte Bakterien, und zwar kugel- und stäbchenförmige Arten nachweisbar sind; da bei den untersuchten Wurzeln eine Knöllchenbildung nicht zu erkennen war, so ist damit gleichzeitig auch der Beweis erbracht, daß die Bakterien nicht durch diese Gebilde, sondern auf einem anderen Wege, wahrscheinlich durch die Wurzelhaare, in die Wurzeln gelangen müssen.

Daß die Bakterien keine Eiweißkörper, die Bezeichnung Bakteroiden für dieselben eine falsche ist, ergaben ferner die Untersuchungen; denn weder mit Millon's Reagenz, noch mit Jodlösung, noch mit dem Mesnard-Prozeß war ein Vorhandensein von Spuren Eiweiß zu erkennen.

Die Bakterien ließen sich auf den verschiedensten Nährböden züchten, zeigten ein teils schnelleres, teils langsames Wachstum; ein Zusatz von 0,01 Asparagin und 0,05 Rohrzucker auf 10 ccm Gelatine beschleunigte und beförderte das Koloniewachstum nicht, die Gelatine wurde stets verflüssigt und die chromogenen Erscheinungen traten stets deutlich zu Tage.

Auf die Bildung der Kolonien hatte eine Zufuhr oder der Abschluß von Licht keinen Einfluß, die mit Normal-Natronlauge neutralisierten Nährböden zeigten bei der Verflüssigung der Gelatine stets eine schwach saure Reaktion.

Im hängenden Tropfen war eine Bewegung der zahlreichen, stäbchenförmigen Bakterien zu erkennen, die Bakterien zeigten keine Sporenbildung, auch waren Geißeln nicht nachweisbar.

In den Samen waren Bakterien niemals aufzufinden, folglich können die gefundenen Bakterien in den Wurzeln nur durch im Boden sich findende Bakterien entstanden und in die Wurzeln eingewandert sein.

E. Roth (Halle a. S.).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. ARTHUR WÜRZBURG,
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Meyer, A., Platinnadeln (Kappennadeln) für den bakteriologischen Gebrauch. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXIX. 1901. No. 6. p. 260—261.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Bailey, V., Revision of American voles of the genus *Microtus*. (U. St. Departm. of Agricult. Divis. of biolog. survey. North Amer. Fauna. 1900. No. 17.) gr. 8°. 79 p. Washington 1900.

Bassett, H. F., New species of North American Cynipidae. (Transact. of the Amer. entomol. soc. Vol. XXVI. 1900. No. 4. p. 310—336.)

Bokorny, Th., Gewöhnung von Mikroben an schädliche Nährsubstrate. (Allg. Brauer- u. Hopfenztg. 1900. No. 302. p. 3669.)

Braun, M., Ueber einige Trematoden der Creplin'schen Helminthensammlung. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXIX. 1901. No. 6. p. 258—260.)

Bresadola, J., Fungi aliquot saxonici novi lecti a cl. W. Krieger. (Hedwigia. 1900. Heft 6. p. 325—328.)

Casali, C., Seconda contribuzione alla conoscenza della flora micologica avellinese. (Bulet. d. soc. botan. ital. 1900. No. 7/8. p. 224—234.)

Dietel, F., Uredineen und Ustilagineen. (Ber. d. dtsh. botan. Ges. 1900. Generalversamml.-Heft. p. 122—132.)

Du Buysson, R., Notes sur quelques cynipides (Hymén). (Bullet. de la soc. entomol. de France. 1900. No. 18. p. 357.)

Duggar, B. M., Physiological studies with reference to the germination of certain fungus spores. Botan. Gazette. 1901. No. 1. p. 38—66.)

Hunter, S. J., The coccidae of Kansas. III. (Kansas univ. quart. Vol. IX. 1900. No. 2.)

Looss, A., Natura doceri, eine Erklärung und Begründung einiger Grundsätze, welche mich bei meinem „Versuche einer natürlichen Gliederung des Genus *Distomum Retzius*“ geleitet haben. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXIX. 1901. No. 5. p. 191—210.)

Lutz, A., Ueber einen Befund von *Eustrongylus gigas* bei einem neuen Wirte. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXIX. 1901. No. 6. p. 256—257.)

Ouvray, E., Le puceron lanigère. (Bullet. de la soc. r. linnéenne de Bruxelles. 1900. No. 7.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Boden.

Kahn, J., Die Assimilation des freien Stickstoffes durch Bodenbakterien ohne Symbiose mit Leguminosen. (Fühling's landwirtschaftl. Ztg. 1901. Heft 1. p. 2—9.)

Stoklass, J., unter Mitwirkung von **Duchacek, F.** und **Pitra, J.**, Ueber neue Probleme der Bodenimpfung. (Ztschr. f. d. landwirtschaftl. Versuchswesen in Oesterreich. 1901. Heft 1. p. 10—29.)

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

Bier, Brauerei.

de Geyter, G., La saccharification continue et la diffusion méthodique appliquées à la brasserie. (Rev. univ. de la brasserie et de la malterie. 1900. No. 1290, 1291.)

Johnson, H., La diastase protéolytique du malt. (Petit journ. du brasseur. 1900. p. 443—444.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

Hollrung, M., Die Mehlmotte, *Ephestia Kühniella*, eine Gefahr für das Müllereigewerbe. (Landwirtschaftl. Wchschr. f. d. Prov. Sachsen. 1900. No. 52. p. 470—471.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Harmlose Bakterien und Parasiten.

- Bélison, F.**, Les nodosités des légumineuses. (Coopér. agric. 1900. No. 29.)
Mattirolo, O., De l'influence que l'extirpation des fleurs exerce sur les tubercules radicaux des plantes légumineuses. (Arch. ital. de biol. T. XXXIV. 1900. Fasc. 2. p. 233—261.)

Krankheitsregende Bakterien und Parasiten.

- André, A.**, Chardons et chenilles. (Labreur. 1900. No. 27.)
Bauer, L., Une nouvelle maladie de la betterave à sucre. (Coopérat. agric. 1900. No. 2.)
Beck, B., Ueber eine Pilzkrankheit der Weißtanne. (Tharander forstl. Jahrb. Bd. L. 2. Hälfte. 1900. p. 178—194.)
Bordas, L., Contribution à l'histoire naturelle de quelques gryllidae et notamment le *Brachytrupes achatinus* Stoll, qui, au Tonkin, cause des ravages dans les plantations de café. (Annal. de l'Institut. colon. de Marseille. Vol. VII. 1900. Fasc. 2.) 75 p. Paris (Challamel) 1900.
Calmé, Th., Les ennemis de la betterave. (Coopérat. agric. 1900. No. 24, 25.)
 —, De la destruction des pucerons. (Ibid. No. 30.)
Cockerell, T. D. A., A new oak-gall from New Mexico (*Dryophanta Porterae* n. sp.). (Canad. entomol. Vol. XXXII. 1900. No. 3. p. 91—92.)
Croizette des Moyers, Destruction des vers blancs par la benzine. (Bullet. de la soc. r. linnéenne de Bruxelles. T. XXV. 1900. No. 2.)
Delauroix, G., La maladie des oeillets d'Antibes. 8^o. 43 p. (Extr. d. Annal. de l'Institut. nation. agronom. Nancy 1901.)
Del Guercio, G., Insetti ed insetticidi contro le larve delle cavolaie; note ed osservazioni. (Atti d. r. accad. econom.-agrar. d. Georgofili di Firenze. Ser. 4. Vol. XXXII. 1900. Disp. 2.)
Forbes, St. A. and Hart, Ch. A., The economic entomology of the sugar beet. (Univers. of Illinois agricult. experim. stat., Urbana. Bull. No. 60. 1900. p. 397—532.)
Giard, A., Sur un hémiptère (*Atractotomus mali* Mey.) parasite des chenilles d'*Hyponeomeuta malinellus* Zeller et *H. Padellus* L. (Bullet. de la soc. entomol. de France. 1900. No. 18. p. 359—360.)
Gillette, C. P., Entomological notes from Colorado. (Proceed. of the 12. annual meet. of the assoc. of econom. entomol. U. S. Departm. of agricult. Divis. of entomol. N. S. Bullet. No. 26. Washington 1900. p. 76—80.)
de Havay, O., Destruction des souris des champs au moyen de bacilles pathogènes. (Union. 1900. p. 407.)
Hermann, F., Ueber Bekämpfung und Verbreitungsweise des *Trametes radiciperda*. (Tharander forstl. Jahrb. Bd. L. 2. Hälfte. 1900. p. 195—199.)
Hollrung, Die Nematoden im Hafer und die Bekämpfung derselben. (Landwirtschaftl. Wchbl. f. Schleswig-Holstein. 1901. No. 2. p. 18—20.)
Howard, A., On *Trichosphaeria Sacchari*, Masee; a fungus causing a disease of the sugar-cane known as „rind fungus“. (Annals of botany. 1900. Dec. p. 617—631.)
Johnson, W. F., A Braconid parasitic on *Anobium domesticum* (*Spathius exarator*). (Irish Naturalist. Vol. IX. 1900. Nov. p. 270.)
Kirkland, H. A., The brown-tail moth in Massachusetts. (Proceed. of the 12. annual meet. of assoc. of econom. entomol. U. S. Departm. of agricult. Divis. of entomol. N. S. Bullet. No. 26. Washington 1900. p. 75—76.)
Kühlmann, E., Erfahrungen bei der Bekämpfung des *Aescherigs* (*Oidium Tuckeri*). (Weinbau u. Weinhandel. 1900. No. 49. p. 492—493.)
Kunkel d'Herculeis, J., Insectes destructeurs des arbres forestiers. (Bois. 1900. No. 13, 15, 17, 18, 20, 22, 24, 28.)
Maachiati, L., Intorno alla funzione difensiva degli afidi. (Bullett. d. soc. botan. ital. 1900. No. 7/8. p. 284—290.)
Mangin, L., Sur le parasitisme du *Fusarium roseum* et des espèces affines. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXI. 1900. No. 26. p. 1244—1246.)
Marlatt, L., La lutte contre les insectes nuisibles. (Semaine hortic. 1900. p. 268—269.)

- Mayet, V.**, Traitements viticoles insecticides pendant l'hiver. (Journ. d'agricult. prat. 1900. No. 52. p. 936—937.)
- Melle, A.**, Le blé et les corbeaux. (Journ. de la soc. r. agric. de l'est de la Belgique. 1900. p. 155.)
- Muth, Fr.**, Ueber die Beschädigung von Kartoffeln durch einen Tausendfuß. (Wehbl. d. landwirtschaftl. Vereins im Großherzogt. Baden. 1900. No. 52. p. 764—765.)
- de Nobele, L.**, Diagnostic populaire et thérapeutique des maladies des arbres fruitiers: Maladies du poirier. (Bullet. d'arboricult. et de floricult. potag. 1900. No. 45—48. p. 124—127, 138—140, 199—201, 238—240.)
- Fabst, C.**, Destruction des fourmis. (Bullet. hort. agric. et apic. 1900. p. 173—174.)
- Peglion, V.**, Sulle cause delle resistenza delle viti americane alla fillossera: saggio storico critico. (Atti d. r. accad. econom.-agrar. d. Georgofili di Firenze. Ser. 4. Vol. XXIII. 1900. Disp. 2.)
- Speth, J.**, Zur Bekämpfung des Heu- und Sauerwurms an der Mosel. (Weinbau u. Weinhandel. 1900. No. 52. p. 523.)
- Staes, G.**, De erwtenkever en zijne bestrijding (Bruchus Pisi). (Tijdschr. over plantenziekten. 1900. Aflev. 3/4. p. 105—123.)
- Stift, A.**, Les maladies de la betterave. Trad. par M. Deutsch. 8°. X, 111 p. Paris (Impr. Cerf) 1900.
- Sugny, J. B.**, Altération des plantes par les insectes. (Luxembourgeois. 1900. p. 320—321.)
- Thiselton-Dyer, Sir W. T.**, Note on the sugar-cane disease of the West Indies. (Annals of botany. 1900. Dec. p. 609—616.)
- Trotter, A.**, Zooecidii della flora mantovana. (Atti d. soc. d. naturalisti di Modena. 1898/99. Ser. 3. Vol. XVI.)
- —, Zooecidii della flora modenese e reggiana. (Ibid.)
- Wendelen, Ch.**, Le puceron du rosier. (Chasse et pêche. 1900. p. 653.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

- Holtz, Wilhelm**, Beitrag zur Kenntnis der Baumflüsse und einiger ihrer Bewohner. (Orig.) [Forts.], p. 274.
- Ludwig, F.**, Phosphoreszierende Tausendfüßler und die Lichtfäule des Holzes. (Orig.), p. 270.
- Stoklasa, Julius u. Vitek, Eugen**, Die Stickstoffassimilation durch die lebende Bakterienzelle. (Orig.), p. 257.

Original-Referate aus den Sitzungen gelehrter Gesellschaften.

Royal Society, London.

- Potter, M. C. u. Foster, M.**, Ueber

eine Bakterienkrankheit der Rüben (Brassica Napus). (Orig.), p. 282.

Referate.

- Magnus, Werner**, Studien an der endotrophen Mykorrhiza von Neottia Nidus avis L., p. 291.
- Nicolai, Karl Heinr.**, Bakteriologische Untersuchungen über Wurzeln und Samen von Hedysarum coronarium, p. 301.
- Woods, Albert F.**, Stigmonose, p. 300.
- Wortmann, J.**, Untersuchungen über das Bitterwerden der Rotweine, p. 289.

Neue Litteratur, p. 302.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Prof. Dr. J. Behrens in Weinsberg i. W.,
Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Dr. v. Freudenreich in Bern, Privatdocent
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Dr. G. Harris Morris
in London, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädenswil, Dr. Erwin F. Smith in
Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr.,
Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel
und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VII. Band.

Jena, den 6. Mai 1901.

No. 9/10.

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

*Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die
Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung
der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.*

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

**Ueber die Wirkung des Sauerstoffes auf die Gärung
verschiedener Hefearten.**

Von D. Iwanowski und S. Obrastzow in St. Petersburg.

Ueber die alkoholische Gärung zu berichten und nicht über
die „Zymase“ zu sprechen, wird heutzutage als nicht zeitgemäß
angesehen, womit ich aber nicht einverstanden sein kann. Sowohl
nach dem Erscheinen der ersten Mitteilung über die „Gärung ohne

lebende Hefezellen“, wie auch jetzt glaube ich, daß man einen großen Fehler begeht, indem man die von Pasteur mit solch eminenten Fortschritten inaugurierte Bahn verläßt, und alte, längst widerlegte Hypothesen aufzuwärmen versucht. Wie interessant an und für sich auch die Buchner'schen Versuche sind, so können sie doch nicht genügen, um die Existenz eines speziellen Enzyms der alkoholischen Gärung zu beweisen, und finden in der längst bekannten Thatsache des Ueberlebens des Zellplasmas ihre ganz natürliche Erklärung.

Diese Ansicht beginnt übrigens sich zu verbreiten. Aus zahlreichen Untersuchungen hat die „Zymase“ sich als ein höchst komplizierter und labiler, dabei aber allen bis jetzt bekannten Enzymen unähnlicher Körper erwiesen, so daß schon Viele (Wroblewski, Beijerinck, Cramer, Loew, Macfadyen) sich der Ansicht anschließen, daß die Zymase ihren Eigenschaften nach dem Protoplasma am nächsten steht. Die Zeit ist wohl nicht fern, wann ihre Identität mit dem Plasma einstimmig anerkannt wird. Dann wird man wieder zu der einzig richtigen Methode, nämlich der biologischen Erforschung der Gärungen zurückkommen.

Auf diesem Gebiete wird die Frage über die Wirkung des Sauerstoffes auf die alkoholische Gärung noch von manchen als nicht endgiltig entschieden betrachtet. In den 1890er Jahren hat es sich durch die aufeinanderfolgenden Untersuchungen von A. Brown, dem Ref., Chudjakow und Rapp herausgestellt, daß der Sauerstoff die Gärungsenergie der Hefen (abgesehen von der erhöhten Vermehrung der Hefezellen) in keiner Weise beeinflußt. In jüngster Zeit wird durch die von Korff vorgenommenen Untersuchungen¹⁾ eine neue, bis jetzt fast unbeachtet gebliebene Frage in Angriff genommen, nämlich das Verhalten der verschiedenen Heferassen und -arten bei Gärung mit oder ohne Sauerstoff.

Von der Ansicht ausgehend, daß der Einfluß von Sauerstoff, wie überhaupt die physiologische Bedeutung des Gärungsaktes bei allen Gärungserregern ein und dieselbe sein muß, beschränkten sich die Forscher bei ihren Untersuchungen auf das Studium irgend einer beliebig gewählten Hefeart oder -rasse, weil sie der Ueberzeugung waren, daß die auf solche Weise gewonnenen Resultate auch auf alle anderen Hefen anwendbar seien. Korff behauptet nun in seiner oben citierten Arbeit, daß solch eine Verallgemeinerung der Resultate nicht den Thatsachen entspreche, sondern daß in Wirklichkeit der Einfluß des Sauerstoffes auf die Gärung, je nach dem, welche Heferasse bei den Versuchen benutzt wird, ein verschiedener sei.

Somit sucht man einerseits die alkoholische Gärung als einen chemischen, vom Leben ganz unabhängigen Prozeß aufzufassen, andererseits aber wird angegeben, daß diese Gärung sogar durch die kleinsten Unterschiede, wie solche zwischen den verschiedenen

1) Korff, G., Einfluß des Sauerstoffes auf Gärung, Gärungsenergie und Vermehrungsvermögen verschiedener Heferassen. (Dess. Centralbl. 1893.)

Heferasen bestehen, in seinen wesentlichen Eigenschaften beeinflusst wird. Man hat also noch viel Zeit und Arbeit nötig, um die wahre Natur des Gärungsaktes kennen zu lernen.

Korff experimentierte mit 3 Heferasen, nämlich: Saaz, Logos und Froberg. Die Gärung wurde in gleichen Gefäßen, wie sie auch von Chudjakow bei seinen Versuchen benutzt wurden, vorgenommen. Bei 3 Parallelkulturen führte er durch die Nährlösung Luft, Sauerstoff und Wasserstoff. Als Nährlösung diente ihm eine Saccharoselösung mit einem Zusatz von Hefebouillon („eau de levure“ Pasteur) oder Asparagin. Die Resultate der Analyse wurden ausgedrückt durch die Gärungs- resp. Vermehrungsenergie und durch das Gärungs- resp. Vermehrungsvermögen.

Unter Vermehrungsenergie versteht Autor die Vermehrung, welche im Verlaufe der ersten 4 Tage vor sich geht, unter Vermehrungsvermögen dagegen die Zellenanzahl am Schlusse der Gärung (14 Tage nach Beginn der Versuche).

Dementsprechend bezeichnet er als Gärungsenergie die Zuckermenge, welche in den ersten 4 Tagen in 100000 Zellen zersetzt wurde, als Gärungsvermögen aber die Zuckermenge, welche zum Schluß der Gärung zersetzt war, d. h. ebenfalls nach 14 Tagen.

Durch die Resultate der nach oben beschriebener Methode unternommenen zahlreichen Versuche kam Autor zu folgenden Schlußfolgerungen: 1) Eine mäßige Lüftung erhöht die Versuchsenergie (Saaz, Froberg) oder unterdrückt sie (Logos); 2) eine mäßige Lüftung erhöht die Gärungsenergie (Saaz, Logos) oder schwächt sie (Froberg); 3) Wasserstoff unterdrückt die Vermehrungsenergie (Saaz, Logos) oder ist ganz wirkungslos (Froberg); 4) Wasserstoff schwächt die Gärungsenergie (Saaz, Froberg) oder ist ohne Einfluß (Logos).“

Diese Resultate fallen vor allem durch ihre Widersprüche auf. So wird bei der Hefe Froberg sowohl durch mäßige Lüftung als auch durch Wasserstoff gleicherweise die Gärungsenergie geschwächt.

Solche unerwartete Resultate lassen sich dadurch erklären, daß Autor sich nicht bloß mit seinen eigenen Resultaten begnügte, sondern noch die Resultate der Versuche von Hess¹⁾ zu Hilfe nahm, die doch zu ganz anderen Zwecken und nach einer ganz anderen Methode angestellt waren. Mit jenen Daten von Hess vergleicht er die Resultate seiner mit reinem Sauerstoff, Luft und Wasserstoff unternommenen Versuche.

In den Versuchen von Hess befand sich aber die gärende Flüssigkeit in voller Ruhe, während bei den Korff'schen Versuchen durch dieselbe ununterbrochen ein Gasstrahl geleitet wurde. Derartige verschiedene Methoden bewirken schon ganz allein wesentliche Unterschiede, ganz abgesehen von der Art des durchströmenden Gases, und darf man Vergleichen zwischen solchen verschiedenartigen Versuchen nicht anstellen. Lassen wir nun die

1) Hess, Vergärung der Saccharose durch Heferasen. Logos, Saaz und Froberg. 1898.

Versuche von Hess beiseite, und berücksichtigen wir nur die vom Autor selber angestellten Versuche, so erweist sich, daß gar kein Unterschied zwischen den einzelnen Hefearten in ihrem Verhältnis zum Sauerstoff bemerkbar ist.

Obgleich man sich daher zu den Korff'schen Folgerungen sehr skeptisch verhalten muß, so ist doch die durch seine Untersuchungen hervorgerufene Frage entschieden wichtig genug, sich noch weiter mit ihr zu beschäftigen. Wie auch diese oder jene a priori Beweisführung wahrscheinlicher sein mag, so kann doch ein endgiltiges Urteil nur durch Versuche erbracht werden, und in dieser Hinsicht haben wir bisher, außer der Arbeit von Korff, keine anderen Angaben in der Litteratur zu verzeichnen.

Aus diesen Gründen schlug ich Herrn Obrastzow vor, entsprechende Versuche zur näheren Aufklärung der obigen Frage zu machen, und ist es der Zweck der vorliegenden Mitteilung, die Resultate dieser Versuche zu veröffentlichen.

Zu den Versuchen wurden folgende Hefen benutzt: „S. P o m b e, S. ellipsoideus I und S. cerevisiae I.“ Wenn das Verhältnis der verschiedenen Hefen zum Sauerstoff ein ungleiches sein sollte, so müßte in unserem Falle diese Verschiedenheit noch deutlicher zu Tage treten, als wie bei den Versuchen von Korff, da letzterer nur mit verschiedenen Heferassen ein und derselben Hefeart experimentierte, aber nicht mit verschiedenen Arten.

Die Hefe wurde in einer Lösung von Saccharose, Pepton und Nährsalz kultiviert. Nach Schluß der Versuche wurden die Hefemengen nach dem Austrocknen bei einer Temperatur von 103° nach dem Gewicht bestimmt, und die Menge nachgebliebenen Zuckers nach der Titriermethode. Aus den so gewonnenen Daten wurde dann die Gärungsenergie berechnet, die ausgedrückt wurde durch die Anzahl von Grammen des Zuckers, der durch 1 g Hefe zersetzt war. Zur Berechnung diente folgende Formel:

$$e = \frac{2(S - L^1)}{(1 + L)}$$

Es bedeutet hier S = Menge des zersetzten Zuckers, l = Trockengewicht der Hefe beim Beginn der Versuche, L = Trockengewicht der Hefe am Schlusse der Versuche, L¹ = Zunahme der Hefe im Verlaufe der Versuche (= L - l).

Die Methode der Versuche war eine verschiedenartige. Bei einer Versuchsreihe benutzte man die von vielen Forschern so beliebte Durchführung eines Luftstromes und inerter Gase (Stickstoff) durch die Vergleichskulturen. In vielen Arbeiten wurde diese Methode ausführlicher beschrieben (s. z. B. die oben citierte Arbeit von Chudzakow), weshalb ich es für überflüssig halte, hier nochmals ihre Beschreibung zu wiederholen. Ich will nur bemerken, daß die Hefe vorher in aërober Kultur gezüchtet wurde, und zwar in der gleichen Lösung, wie sie zu den Versuchen benutzt wurde. Das Abmessen geschah nach dem Volumen der gut durchschüttelten Kultur, wobei man sehr genau ganz gleiche Hefemengen erhält,

ohne zu befürchten, daß man dabei dieselben durch fremde Mikroben verunreinigt.

Bei den Parallelversuchen — in der Luft und Azot — wurde Hefe von ein und derselben Kultur verwendet, so daß also die vorbereitende Erziehung (*éducation de la semence*) eine vollständig gleiche war. Ich lege auf diesen Umstand ganz besonderes Gewicht, weil die Versuche von Korff, wie wir weiter unten sehen werden, auch in dieser Hinsicht recht wesentliche Unterschiede aufweisen.

Die Versuche dauerten 5—6 Stunden bei Zimmertemperatur. Die vollständige Abwesenheit von Sauerstoff bei den anaëroben Kulturen wurde durch Kontrollversuche bestätigt.

Bei der 2. Versuchsreihe fanden beide Kulturen, die aërobe und die anaërobe, unter vollständiger Ruhe statt. Die anaërobe Kultur wurde in hermetisch verschlossenen Kolben mit großer Bodenfläche gemacht, wobei die Luft durch reinen Azot ersetzt wurde. Die aërobe Kultur geschah in gleichen Kolben, die durch Watte- stöpsel mit der umgebenden Luft kommunizierten. Dank der großen Bodenfläche der Kolben bildete die gärende Flüssigkeit (50 ccm) eine sehr dünne Schicht (1,5—2 mm), so daß der Zutritt des Sauerstoffes zu den Hefezellen hinreichend sein mußte. Die Aussaat geschah mit einer minimalen Hefemenge und dauerte der Versuch 46—48 Stunden. Die Resultate wurden gleichfalls nach oben gegebener Formel berechnet, und wurde außerdem noch eine zweite Berechnung nach Pasteur gemacht, d. h. also das Verhältnis des Zuwachses Hefe (Trockengewicht) zur Menge des zersetzten Zuckers.

Ich bringe jetzt die Versuchsprotokolle:

Erste Versuchsreihe.

Versuch 1. Hefe: Sacch. Pombe.

a) Zusammensetzung der Nährlösung:

Rohrzucker . . .	5,143
Pepton	0,50
Nährsalzlösung . . .	50 ccm
Hefeaussaat	0,250

b) Resultate:

	in Luft	in Stickstoff
Zucker zersetzt . .	1,511	1,303
Hefe gefunden . . .	0,306	0,266
Gärungsenergie . . .	5,2	5,0

Versuch 2. Hefe: Sacch. Pombe.

a) Nährlösung:

Rohrzucker	4,486
Pepton	0,5
Nährsalzlösung . . .	50. ccm
Hefeaussaat	0,195

b) Resultate:

	in Luft	in Stickstoff
Zucker zersetzt . . .	1,270	1,221
Hefe gefunden . . .	0,224	0,196
Gärungsenergie . . .	6,0	6,2

Versuch 3. Hefe: *S. cerevisiae*.

a) Nährlösung:

Rohrzucker . . .	5,133
Pepton	0,50
Nährsalzlösung . . .	50 ccm
Hefeaussaat	0,267

b) Resultate:

	in Luft	in Stickstoff
Zucker zersetzt . . .	0,757	0,647
Hefe gefunden . . .	0,308	0,287
Gärungsenergie . . .	2,48	2,26

Versuch 4. Hefe: *S. cerevisiae*:

a) Nährlösung:

Rohrzucker	4,486
Pepton	0,50
Nährsalzlösung . . .	50 ccm
Hefeaussaat	0,232

b) Resultate:

	in Luft	in Stickstoff
Zucker zersetzt . . .	0,331	0,317
Hefe gefunden . . .	0,256	0,254
Gärungsenergie . . .	1,25	1,21

Versuch 5. Hefe: *S. ellipsoideus* I.

a) Nährlösung:

Rohrzucker	4,628
Pepton	0,50
Nährsalzlösung . . .	50 ccm
Hefeaussaat	0,291

b) Resultate:

	in Luft	in Stickstoff
Zucker zersetzt . . .	0,537	0,524
Hefe gefunden . . .	0,321	0,315
Gärungsenergie . . .	1,65	1,63

Versuch 6. Hefe: *S. ellipsoideus* I.

a) Nährlösung:

Rohrzucker	4,853
Pepton	0,50
Nährsalzlösung . . .	50 ccm
Hefeaussaat	0,217

b) Resultate:

	in Luft	in Stickstoff
Zucker zersetzt . . .	0,329	0,149 (?)
Hefe gefunden . . .	0,230	0,223
Gärungsenergie . . .	1,40	0,64

Zweite Versuchsreihe.

Versuch 1. Hefe: *S. Pombe*.

a) Nährlösung:

Rohrzucker	4,780
Pepton	0,50
Nährsalzlösung	50 ccm
Dauer des Versuches 48 Stunden.	
Temperatur 33°.	

b) Resultate:

	in Luft	in Stickstoff
Zucker zersetzt	4,568	4,441
Hefe gefunden	0,134	0,132
Gärungsenergie	33,0	32,6
Berechnung nach Pasteur	1/34	1/33

Versuch 2. Hefe: *S. cerevisiae*.

a) Nährlösung:

Rohrzucker	5,412
Pepton	0,5
Nährsalzlösung	50 ccm
Dauer des Versuches 47 Stunden.	
Temperatur 32°.	

b) Resultate:

	in Luft	in Stickstoff
Zucker zersetzt	2,530	0,879
Hefe gefunden	0,192	0,065
Gärungsenergie ¹⁾	12,4	12,7
Berechnung nach Pasteur	1/13	1/13

Versuch 3. Hefe: *S. ellipsoideus*.

a) Nährlösung:

Rohrzucker	4,821
Pepton	0,50
Nährsalzlösung	50 ccm
Dauer des Versuches 46 Stunden.	
Temperatur 29°.	

b) Resultate:

	in Luft	in Stickstoff
Zucker zersetzt	3,337	2,123
Hefe gefunden	0,177	0,110
Gärungsenergie	18,6	18,9
Berechnung nach Pasteur	1/19,7	1/20

1) In dieser 2. Versuchsreihe wurde die Gärungsenergie nicht für 5—6, sondern für 24 Stunden berechnet.

Versuch 4. Hefe: *S. ellipsoideus*.

a) Nährlösung:

Rohrzucker	4,974
Pepton	0,50
Nährsalzlösung	50 ccm
Dauer des Versuches 48 Stunden.	
Temperatur 34°.	

b) Resultate:

	in Luft	in Stickstoff
Zucker zersetzt	3,420	2,013
Hefe gefunden	0,165	0,103
Gärungsenergie	19,7	18,5
Berechnung nach Pasteur	1/20	1/19

Es liefern so die oben aufgeführten Versuche die Schlußfolgerungen, daß hinsichtlich der Wirkung des Sauerstoffes auf Gärungsenergie die Art der Hefe ganz ohne Einfluß ist, ganz gleich ob es *S. Pombe*, *S. cerevisiae* I oder *S. ellipsoideus* I ist, und ist namentlich auch ein geringerer oder größerer Luftzutritt ganz ohne Wirkung. Dieses Resultat unterscheidet sich vom Korff'schen in zweierlei Hinsicht.

Erstens ist gar kein Einfluß der Hefearten hinsichtlich der Wirkung des Sauerstoffes bemerkbar. Betreffs dieses Punktes wurde schon früher gesagt, daß auch in der Korff'schen Arbeit bei einer richtigen Beurteilung der von ihm aufgeführten Versuche kein Einfluß der Hefearten zu ersehen ist. Zweitens ergibt sich aus obigen Versuchen, daß, gleich den Resultaten früherer Forscher, die Gärungsenergie in keiner Weise von dem Sauerstoffe der Luft abhängig ist. Bei den Korff'schen Versuchen tritt scheinbar eine Verstärkung derselben auf. Ein solches Resultat muß jedoch sehr wahrscheinlich durch die ungleichartige Hefezüchtung bei seinen Versuchen erklärt werden. Die Hefen, welche für die aëroben Kulturen bestimmt waren, wurden von Korff unter Luftzutritt erzogen, während die zur Impfung der anaëroben Kulturen benutzten Hefen vorher 8—10 Tage lang unter Ausschluß von Sauerstoff erzogen wurden. Infolgedessen wurden bei den Parallelversuchen ihren Eigenschaften nach verschiedenartige Hefen benutzt. Es ist sehr wahrscheinlich, daß die Hefe bei einer 8-tägigen Kultur in einem sauerstoffleeren Medium sehr geschwächt wurde, und viele Zellen gewiß schon abgestorben waren, während sie doch bei der Berechnung der Resultate als lebende und funktionierende galten. Man braucht sich daher gar nicht zu wundern, daß bei Korff die Gärung in einem Medium ohne Sauerstoff sich schwächer erwies, als bei Gegenwart von Sauerstoff. Es kann bei solcher Versuchsmethode, wie sie von diesem Autor angewandt wurde, auch kaum ein anderes Resultat erwartet werden.

St. Petersburg, im Januar 1901.

Nachdruck verboten.

Der javanische Ragi und seine Pilze. II.

Von C. Wehmer.

Mit 1 Tafel.

3. *Rhizopus Oryzae* Went u. Pr. Geerlgs.

(Fig. 1—10.)

Diese Art wurde schon von Went und Prinsen Geerligs aus den javanischen Reismehlkuchen (Ragi) isoliert und beschrieben (l. c. p. 16). Meine Feststellungen beziehen sich vorzugsweise auf einige noch offene morphologische Fragen, um so eventuell Anhaltspunkte für eine Abgrenzung gegen den unstreitig sehr ähnlichen *Rhizopus nigricans* zu gewinnen. Das Resultat ergab freilich mehr das Gegenteil; die Unterscheidung ist schwer. Der Vollständigkeit halber schicke ich die genauere Beschreibung voraus, eine bislang fehlende Diagnose schließt sich an; in einigen Punkten wich mein Material von dem Went's ab.

A. Morphologisches.

(Fig. 2—5.)

Die Pilz bildet auf festen wie flüssigen Substraten mehrere Centimeter hoch emporwachsende¹⁾ dichte, anfangs schneeige, späterhin durch die dunklen Sporangien bräunliche bis grauschwarze Rasen, deren Luftmycelien bei Berührung der Gefäßwand Rhizoiden und Sporangien entwickeln; letztere entstehen aber reichlich und ganz ähnlich auch innerhalb der Fadenmasse, deren mikroskopische Bearbeitung — wie auch bei anderen *Mucor*-Arten — mit einigen Schwierigkeiten zu kämpfen hat, da bei dem Versuche der Herausnahme einzelner Partien aus der Kultur das ganze Hyphengeflecht gern zu einer schwer entwirrbaren Masse zusammengeht, die beim Zerzupfen dann überall zerrissen wird. Besonders von Decken auf flüssigen Nährlösungen sind geeignete Präparate ohne völlige Preisgabe der Kultur schlecht zu erhalten.

Die Sporangienträger der Ausläufer sind wenige Millimeter lang, gerade, unverzweigt, gruppenweise zu 2—5, reif mit mehr oder minder brauner Wand; außerdem kommen noch längere einfache, auch unregelmäßig verzweigte (gablig-wirtelig) vor; die Stildicke beträgt im Mittel 12—18 μ .

Sporangien (kugelig) unreif schneeweiß, sich allmählich dunkel färbend, im extremen Falle tief braunschwarz, undurchsichtig, gelegentlich auch heller bleibend. Ihre Wand ist bei der Reife zunächst zerfließlich, wird aber bald hart (ältere Kulturen) und bricht dann unter dem Mikroskop mit der zusammenhaltenden Sporenmasse von der Columella ab, nicht selten als

1) Alle diese Angaben sind auf Kulturen in Erlenmeyer-Kolben oder Reagenzglas unter Watteverschluß zu beziehen. An freier, nicht dampfgesättigter Luft muß sich das Bild dementsprechend ändern.

Ganzes. Die Größe der Sporangien ist weiten Schwankungen unterworfen, sie scheint nicht bloß von der Art der Ernährung abhängig, sondern differiert schon in derselben Kultur erheblich, so daß ich sie kaum als diagnostisch verwertbares Merkmal ansehen möchte. Das Durchschnittsmaß betrug ungefähr 150μ , neben solchen fanden sich aber Köpfchen, die nur 50μ Durchm. hatten — allerdings mehr als Ausnahme. Ebenso gut wird der Wert von 150μ (bis gegen 200μ) überschritten. Die oft farblose, auch gelbliche glatte Columella sitzt der Apophyse ziemlich breit auf und bildet mit ihr einen kugeligen, seltener eiförmigen Körper, durchweg ohne Kragenrest (cf. Abb. Fig. 3 f.).

Die Sporen sind ungleich, zumal an Größe, kugelig-länglich, mehr oder minder unregelmäßig, im Mittel von $6-8 \mu$ Durchm., größere bis 10μ , kleinere bis $3,5 \mu$ herunter, mit glatter Wand; die größeren erscheinen grau und derbwandiger (Plasmolyse), die kleinen sind hell, sehr dünnwandig — ob das verschiedene Altersstadien sind, lasse ich dahingestellt, man findet sie in Präparaten stets durcheinander. In alten Köpfchen findet man auch eckige Formen, diese Gestalt tritt bei dichtem Beisammenlagern, sowie auch bei Plasmolyse (Glycerin) mehrfach hervor, so daß ich sie als etwas Sekundäres ansehen möchte.

Zygosporen wurden in den Kulturen nicht beobachtet.

Gemmen kommen mehrfach, wenn auch nicht gerade häufig (auch in den Luftmycelien) vor; sie sind meist oval, relativ dünnwandig, stark lichtbrechend (Fig. 8); hell und nicht wesentlich dicker als die Hyphen (Reis, Zuckerlösung). Es fehlen der Art also jene durch Größe und eminente Wanddicke ausgezeichneten Gebilde des *M. Rouxii*. In flüssigen Nährlösungen (Würze) findet man an den sparsamen submersen Mycelien auch Gemmen des zweiten Typus (Oidien), die durch Querwandbildung und Abrundung entstehen, und völlig der „Kugelhefe“ gleichen (im Mittel $6-18 \mu$ Durchm.). Sie sprossen jedoch nicht, sondern wachsen alsbald mit Keimschlauch (Fig. 11) aus¹⁾.

Die Hyphen sind dick (Luftmycel $12-20 \mu$) oder zarter (submers $5-12 \mu$), oft mit dichtem körnigen Plasma gefüllt, meist farblos, fast nie gelbe Tröpfchen führend.

B. Physiologisches.

Die Art ist nngemein vegetationskräftig und übertrifft darin alle bislang verglichenen *Mucor*-Arten. Schon bei Zimmertemperatur ($15-20^\circ \text{C}$) wächst sie leicht und rasch, mehr aber noch oberhalb 30° und noch bei 40° . Dabei sind feste und flüssige Substrate ziemlich gleichwertig, sie kommt ebenso gut auf Zuckerlösungen wie auf gedämpftem Reis, Kleister, Gelatine, Agar u. a. zur kräftigen Entwicklung. Reis wird alsbald über- wie durchwachsen unter

1) Die Aehnlichkeit mit sprossenden Hefezellen ist allerdings bisweilen täuschend; so z. B. wenn eine große Gemme mit $1-2$ kleineren noch fest verbunden ist (Fig. 11, 12) erscheinen diese ganz wie Knospen. Die Thatsache, daß manche derselben jedoch nachweislich mit Keimschlauch auswachsen, stört die Illusion (cf. Abbildg.); es sind nach allem Ruhestadien.

merklicher Verflüssigung, auf Flüssigkeiten entstehen dagegen fast ausschließlich dicht verwebte, in den Luftraum emporwachsende Decken, nur spärlich submerse Mycelien. Der Wert der einzelnen Zuckerarten ist ähnlich wie bei den oben beschriebenen Mucorineen: Würze (insbesondere), Dextrose, Rohrzucker, Dextrin sind gute Substrate, schlecht ist Milchzucker, wengleich auch er eine sehr dürrtige zarte Decke mit Sporangien entstehen läßt.

Gelatine — auf der Sporangienbildung bis zum gänzlichen Fehlen zurücktreten kann — wird langsam erst nach Wochen (15° C) verflüssigt (hellgelblich), man erhält da öfter hohe, ganz schneeweiße Rasen. Uebrigens kann auch sonst die Sporangienbildung zu wünschen übrig lassen, ohne daß man über den Grund eigentlich etwas sagen kann; in anderen Fällen tritt sie dann plötzlich wieder ganz intensiv auf.

Nennenswerte Gärungserscheinungen ruft der Pilz auch im Brütschrank auf keiner der genannten Zuckerarten hervor, nur in Würze wurden gelegentlich einige schwache Gasbläschen konstatiert. Nur an freier Oberfläche vermag er lebhaft zu vegetieren, zwangsweise untergetaucht, fällt das Luftmycel zusammen. Ueberall entsteht aber in nachweisbarer Menge Alkohol (Würze, Dextrose, Rohrzucker).

Fehling'sche Lösung weist in Reiskulturen unschwer Zuckerbildung nach.

Die Reiskulturen werden nicht selten von einem parasitischen Hyphenpilz befallen, der nur durch vorsichtige Sporenpfimpfung bekämpft werden kann. Unter Schwarzbraunfärbung des Substrates vernichtet er die Rhizopus-Vegetation allmählich gänzlich; sie kommt dann überhaupt nicht mehr oder nur spärlich zur Sporangienbildung. Die Art des in den Hyphen vegetierenden Parasiten ist bislang nicht näher verfolgt.

C. Diagnose.

Sporangienrasen grau- bis schwarzbraun, locker, mehrere (2—5) Centimeter hoch (in Kulturgefäßen) mit längeren einfachen oder regelmäßig (wirtelig, gabelig) verzweigten und kürzeren büschelig gestellten (2—6) einfachen Sporangienträgern, letztere an den Rhizoiden-bildenden „Ausläufern“.

Sporangien jung schneeweiß, später bräunlich bis tief-schwarzbraun, auf mehr oder weniger bräunlich gefärbten Stielen (Wandfärbung); verschieden groß (im Mittel 150 μ Durchm.), kugelig, glatt, soeben gereift mit zerfließlicher, späterhin aber erhärtender brüchiger, glatter, dünner Wand. Columella groß, aufsitzend, mit der Apophyse gewöhnlich kugelig, doch auch eiförmig oder nur $\frac{3}{4}$ -kugelig, farblos oder gelblich (älter), meist ohne Kragenrest, glatt.

Sporen ungleich groß, auch unregelmäßig, meist rundlich-länglich, 6—8 μ lang (sonst zwischen 3 bis 10 μ), grau, derbwandig, daneben auch farblose dünnwandige. In älteren Sporangien fest zusammenhängend, rundlich-eckig bis länglich und mit der Wand stückweise oder in toto von der Columella glatt abbrechend (Fig. 3b).

Gemmen beiderlei Typen („Kugelgemmen“ und „Hyphengemmen“)¹⁾ nicht auffällig, wenig zahlreich, meist klein, relativ dünnwandig und farblos (bis gelblich). Echte Gemmen sowohl in Luft- wie Substratmycel auf festen wie flüssigen Nährböden farblos, glänzend, länglich. Kugelgemmen (keine Kugelhefe!) mehrfach an den spärlichen submersen Mycelien (Würze), in jeder Größe, farblos oder schwach gelblich, mit körnigem, wolkigem, glashellem oder tropfigem Inhalt, nicht sprossend, sondern zu Hyphen auswachsend (Bierwürze Fig. 10), 4—12 μ , auch bis 20 μ Durchm., Wanddicke ca. 1—2 μ .

Zygosporen nicht beobachtet.

Hyphen in Aussehen und Dicke variabel, meist farblos, dünnwandig (12—15 μ Durchm.), hell (submers auch gelblich) mit dicht-körnigem, schaumigem oder wenig hervortretendem Inhalt, submers meist 5—12 μ , Lufthyphen oft dicker und unregelmäßig (dichotom, wirtelig u. a.) verzweigt.

Vorkommen: Im javanischen Ragi.

Gelatineverflüssigung träge. Gärungserscheinungen fehlen. Verzuckert Stärke, bildet etwas Alkohol. Wächst auf Dextrose, Rohrzucker, Maltose, Dextrin u. a., schlecht auf Milchsucker (fast Null). Optimum über 30°. Säuerungsvermögen gering.

D. Vergleich mit anderen Species.

Mit Went's Beschreibung zunächst stimmen meine Resultate hinlänglich überein. Derselbe (l. c.) fand: Columella aufsitzend, etwas birnförmig (120 \times 100 μ), Sporangienwand zerfließlich (meist mit kleinen Oxalatkrystallen besetzt), oft kleinen Basalkragen zurücklassend, Sporangien bräunlichgrauschwarz, sehr verschieden groß (im Mittel 170 μ Durchm.), Sporen 7—8 \times 3,5—5 μ , Zygosporen fehlen, Gemmen (nur Hyphengemmen, „Kugelhefe“ fehlt) länglich, hell, dünnwandig in Luft- wie Substratmycel. Luftmycel wirtelig verzweigt, sporangientragend oder steril weiter wachsend, Ausläufer mit Rhizoiden und Sporangienträgern. Mycelfäden 10—25 μ dick. Allerdings giebt Went an, daß der Pilz in Zuckerlösungen keinen Alkohol bildet, und daß Rohrzucker nicht invertiert wird; dagegen war Säurebildung zu beobachten. Diesen Punkten hat Went aber nur beiläufig Aufmerksamkeit geschenkt, Zweck seiner Arbeit war im wesentlichen das Studium des Verzuckerungsvermögens. Da ich die Went'sche Species selbst in Kultur habe, kann über die Identität kein Zweifel sein, in den Hauptpunkten besteht auch keine Differenz.

Weit mißlicher ist die Frage, ob die Species nun als neu anzusehen ist. Bei ihrer Beantwortung kommt man, wie mir scheint, zu einem verschiedenen Resultat, je nachdem, ob man sich an die Diagnose oder an Vergleichsmaterial hält. Wo zugänglich, ist letzteres

1) Diese Unterscheidung zwischen den innerhalb der erhalten bleibenden Hyphen (richtiger Wände) und den durch Aufteilung aus denselben entstehenden Gemmen scheint mir zweckmäßig, wenn auch unwichtig. Immerhin bilden sich erstere nur in älteren, letztere wohl ausschließlich aus jüngeren Fäden.

naturgemäß der bessere Weg, jedenfalls führt er sicherer zum Ziele. Die Ähnlichkeit der Art mit unserem *Rhizopus nigricans* wurde oben schon hervorgehoben, ich habe mich also zunächst an diesen gehalten, der mir in Präparaten verschiedenen Herkommens (von Früchten, Eßwaren u. a.), sowie in Kultur vorlag.

Bislang vermag ich nun sichere unterscheidende Merkmale gegen diesen nicht anzugeben, beide Species sind also vielleicht ein und dasselbe. *Rh. nigricans* variiert selbst außerordentlich, kaum eines seiner Merkmale entspricht immer der Beschreibung (Ausläufer, Sporangienträger, Columella, Sporen) hinsichtlich Dimension, Farbe und Gestalt. Die Gattung *Rhizopus* scheint überhaupt ein sehr dankbares Gebiet für eine nähere kulturelle Durcharbeitung, zweifellos sind da unter den 9 besser beschriebenen Species noch mehrere ohne Daseinsberechtigung. A. Fischer (l. c.) ordnet dieselben in der Tabelle nach der Sporengestalt in 2 Gruppen und stellt *Rh. nigricans* zu der mit unregelmäßig rundlichen Sporen (eckig, gestreift). Nach der Diagnose in der Kryptogamenflora wäre unser *Rhizopus* kaum hierher zu stellen. Thatsächlich sind die für *Rh. nigricans* angeführten Merkmale bei diesem nicht immer alle vorhanden — es mag das von Alter, Ernährungsbedingungen, Substratcharakter etc. abhängen, dazu kommt dann noch die Variabilität überhaupt. Einige Punkte mögen das erläutern.

Mein *Rh. nigricans* zeigt z. B. mehrfach kleinere Sporangien minder dunkler Farbe, mit eiförmiger oder kugeligere Columella (inkl. Apophyse); diese selbst sitzt nicht breit, sondern verschmälert auf, ganz wie bei *Rh. Oryzae*, Sporen (ebenso Wachstumsoptimum) gerade wie bei diesem, Sporen rundlich-länglich, meist ohne Ecken, relativ dünnwandig, aber auch mit derber Wand, oft ohne streifenförmige Verdickungen (Seibert, Okul. 2, Obj. V $\frac{1}{2}$), Durchm. 8—10 μ , ausnahmsweise darüber¹⁾. Sporangienträger teils kurz (3—4 mm), unverzweigt, büschelig, teils länger, einfach oder unregelmäßig (gabelig, wirtelig, vereinzelt, selbst traubig) verzweigt. Manches entspricht mehr dem *Rh. arrhizus* Fischer und auch anderen Species; doch kann ich mich bislang nicht entschließen, hier Unterschiede zu machen, so lange nicht durch Kultur der Wert dieser Merkmale näher geprüft ist. So undankbar diese Aufgabe, so unerlässlich scheint sie mit der Zeit; auch durch die Neigung dieser Formen zur Varietätenbildung dürfte sie noch erschwert werden. Mikroskopische Merkmale allein scheinen mir aber kaum auszureichen. In einem Falle lieferte das Einfangen des gewöhnlichen *Rhizopus* übrigens prompt eine lange steril gebliebene „Rasse“ mit schneeiigen Luftmycelien nach der Art des *Chlamydomucor*.

1) Van Tieghem giebt als Sporengröße im Mittel 14 \times 11 μ an (Nouvelles recherches sur l. Mucorinées, l. c. p. 78), betrachtet aber kleinere Formen mit zierlichen Sporen als besondere Species (*Rh. minimus*, *Rh. microsporus*) Schröter giebt sie als 10—15 μ lang und bis 11 μ breit an (Kryptogamenflora Schlesiens. III. 2. p. 207), während er den Sporangien Durchmesser nur zu 100 bis 150 μ ansetzt.

4. *Chlamydomucor Oryzae* Went u. Pr. Geerlgs.

(Fig. 12—14.)

Der von Went und Prinsen Geerlgs bereits näher studierte Pilz erscheint auf den Substraten als schneeige, wollige Masse (Luftmycel), ohne Andeutung einer Sporenbildung. Von *Mucor Rouxii* ist er schon durch die lebhaftige Luftmycelbildung und den mangelnden Farbstoff deutlich unterscheidbar, ebenso sind die Wärmeansprüche beider ganz verschiedene: *Chlamydomucor* wächst recht gut bei Zimmertemperatur (15° C), *Mucor Rouxii* dagegen träge. Der Pilz ist — wie das auch schon von Went erwogen wurde — allem Anschein nach die sporenlose Form des *Rhizopus*, so daß ich mich hier auf einige Hauptpunkte beschränken kann.

Wachstum und Mycel ähneln ganz dem des *Rhizopus*, zumal auf festen Substraten (Agar, Reis) bildet er ausgedehnte wirre schneeweiße Rasen, die aus dauernd farblosen (nicht gelbes Oel enthaltenden), reich und unregelmäßig verzweigten Hyphen bestehen. Nur in gewissen festen Substraten (Reis) können Färbungen (braungelbe Wände) auftreten. Der Pilz bildet ausschließlich Gemmen, nur spärlich und dürrig in Flüssigkeiten, reichlich, sowie groß und derb dagegen in festen Nährböden (Fig. 13—14). In alten Kulturen trifft man deren mit oft kolossaler, deutlich geschichteter Wand (bis ca. 17 μ dick), bald farblos (Agar), bald heller bis dunkler braun gefärbt (Reis), wobei seltener allein der körnige Inhalt gelblich ist. Gerade die intensive Wandfärbung erinnert ganz an *Rhizopus*. Die Gestalt ist kubisch bis langgestreckt, auch unregelmäßig bis regelmäßig kugelig (cf. Abb.), die Größe sehr wechselnd, innerhalb der Hyphen 25—30 μ dick (Wand ca. 5 μ), sonst 50—130 μ Durchm. bei Wanddicke von 12—17 μ ; es handelt sich da wohl immer um sogenannte Hyphengemmen, also innerhalb der Hyphen durch Plasmakontraktion (nicht durch Querteilung derselben) entstehende Bildungen. Bemerkenswert ist das Fehlen derartiger großer Gemmen bei dem sporangienbildenden *Rhizopus* (meist zartere Kugelgemmen), während *M. Rouxii* solche gerade bei submerser Vegetation in Zuckerlösungen erzeugte.

Zygosporen fand ich ebensowenig wie Went.

Der Pilz gedeiht gut auf Agar, Gelatine, Würze, Reis, ohne in Würze merkliche Gasentbindung zu bewirken (ganz wie *Rhizopus*), auch das sonstige Verhalten (gegen Reis, Gelatine) ähnelt dem des *Rhizopus*. Wie bei diesem, ist auch das Säuerungsvermögen gering, Kalkbodensatz wurde auch nach Monaten nicht merklich verändert (Kolbenkultur).

Die Leichtigkeit, mit der *Rhizopus* sporenlose Vegetationen liefert, scheint mir gleichfalls für die Zugehörigkeit zu diesem Pilz zu sprechen.

5. *Mucor dubius* nov. spec. (?)

(Fig. 15—23.)

Diesen den *Chlamydomucor* begleitenden Pilz hielt ich zuerst für dessen sporenbildende Form; er hat aber mit ihm nichts zu

schaffen, ebensowenig steht bislang aber sicher, ob er thatsächlich eine neue Species ist. Ich halte das sogar noch für zweifelhaft, vermag ihn aber zur Zeit nicht zu identifizieren, trotzdem ich ihn längere Zeit in Kultur hatte und speziell mit *M. javanicus* — dem er sehr ähnelt — verglichen habe. Er stimmt auch, morphologisch wie physiologisch, mit diesem fast ganz überein, nur finde ich oft nickende Sporangien, und deren Membran in körnigen Häuten sich ablösend, auch etwas mehr gestreckte Sporen, sowie trägeres Wachstum bei höherer Temperatur (vergleichende Kulturreihe). Ueber den Wert dieser Merkmale bin ich noch nicht im Klaren, gebe die Species also unter Reserve.

Sporangienrasen und Decken auf den verschiedenen Substraten ganz denen des *M. javanicus* gleichend; erstere 2—3 cm hoch grau-gelblich oder bräunlich-grau, mit farblosen, seidigen Stielen und gelblich-braunen Sporangien; bisweilen (Gelatine) fast steril, und dann schneeweiß. Decken auf Flüssigkeiten (Zuckerlösungen) ebenso oder ohne Sporangienwald, auch mit sparsamen, bald umsinkenden Trägern, erst grau, dann gelb-orange (Fettropfen).

Sporangienträger zunächst einfach (bis 1 cm hoch), dann (ob immer?) sympodial verzweigt und so 2—3 cm hoch (Reis) emporwachsend mit zahlreichen Sporangien auf oft elegant gebogenen Stielen¹). Sporangien kugelig, bräunlich gelb, durchscheinend, ziemlich klein, nach oben von 50 μ Durchm. ab an Größe abnehmend, Wand der unteren zerfließlich (kleiner Kragenrest), der oberen häufig in feinkörnigen, hellen bis gelblichen Lappen sich ablösend oder in großen Fetzen zurückbleibend. *Columella* nicht aufsitzend, kugelig, farblos, glatt (ca. 25 μ Durchm.). Sporen ungleich, meist deutlich gestreckt, ellipsoidisch bis bohnenförmig, hell, dünnwandig, glatt; meist $6 \times 4 \mu$ (4×3 bis $14 \times 9 \mu$).

Zygosporen unbekannt, Gemmen beiderlei Formen; massenhaft besonders an flottierenden Mycelien entstehen Kugelgemmen („Kugelhefe“) durch gänzliche Aufteilung von Hyphensystemen (Fig. 28), farblos, von sehr variabler Größe, meist 6—10 μ (auch von 3—20 μ) Durchm. Ohne Sprossungserscheinungen, die relativ dicke (scheinbar dünne) Wand — 1—2 μ — als solche deutlich bei Plasmolyse hervortretend; also ganz wie bei *M. javanicus* und von dessen Gemmen nicht zu unterscheiden. Derbwandige Hyphengemmen bis zu 40 μ Durchm., Wanddicke bis 6 μ .

Wächst gut auf Würze (insbesondere), Dextrose, Rohrzucker (nur sehr spärlich auf Milchzucker) schon bei Zimmertemperatur, besser oberhalb 30°. Eine vergleichende Kulturreihe mit *M. javanicus* auf den 4 Zuckerarten bei 38—40° ergab merklich trägeres (um Tage verzögertes) Wachstum gegen diesen, im übrigen aber die gleichen erst grauen, dann gelblichen (Fettropfen) Rasen oder Decken mit umfallenden, sparsamen Sporentägern. Sehr gut und ganz ähnlich ist auch das Wachs-

1) Die unter Reserve gegebene Abbildung auf Taf. II meiner Mitteilung über *M. Rouxii* gehört vielleicht hierher.

tum auf gedämpftem Reis, Agar, Gelatine (weiße Rasen), die gleichfalls sehr träge flüssig wird (15° C).

Gasentbindung lebhaft auf Würze, auch auf Dextrose. Alkohol wird aus allen Zuckern erzeugt. Auch die Deckenbildung ist auf Würze am besten; gewaltsames Untertauchen ergibt alsbald Gasblasen, die sonst unterhalb der Decke oder an submersen Mycelen entstehen.

Ob es sich um eine Varietät des *M. javanicus*, um eine besondere Art, oder um jenen selbst handelt, ist bei der Schwierigkeit, diese ganz ähnlich wachsenden Formen scharf abzugrenzen, noch unentschieden. Der Name ist nur provisorisch; es ist — da ich die Kulturen weiter züchte — gelegentlich darauf zurückzukommen.

Zusammenfassung.

Einige Punkte seien hier unter Vergleich der beschriebenen Arten noch einmal hervorgehoben.

Träger der verzuckernden Wirkung unserer „Chinesischen Hefe“ („Ragi“) sind offenbar vorzugsweise *Rhizopus Oryzae*, *Chlamydomucor* und *Mucor Rouxii*, letzterer in minderm Maße. Dieser, sowie *Mucor javanicus* (einschließlich *M. dubius*), bewirkt auch lebhaftere Gärungserscheinungen, die bei *Rhizopus* und *Chlamydomucor* so gut wie ganz fehlen. Inwieweit in der Praxis übrigen Bakterien noch mitwirken, lasse ich ganz dahingestellt; die Teilnahme von Hefen steht ja fest¹⁾, ohne sie wäre die Vergärung der Reismaischen wohl nicht durchzuführen, wie das auch schon die in der Brennerei mit dem „*Amylomyces*“ gemachten Erfahrungen erweisen. Speziell dieser Pilz ist bezüglich der Bedingungen etwas anspruchsvoll (Temperatur, Nährstoffe), minder dagegen *M. javanicus*.

Weder Gärungserscheinungen noch Alkoholentstehung²⁾ überhaupt stehen aber bei unseren Arten in ursächlichem Zusammenhang mit der Bildung von „Kugelhefe“ — also von Kugelgemmen; auch bezüglich anderer *Mucor*-Arten ist das bislang noch in keinem Falle exakt gezeigt. Alkohol kann erzeugt werden und wird erzeugt als Stoffwechselprodukt jeder lebenden Hefe, das ist ein Vorgang, der mit der Kugelzellbildung nichts zu schaffen hat. Daß man beides miteinander verknüpfte, hat wohl seinen Grund in der auch heute noch in der Litteratur mehrfach verbreiteten irrigen Auffassung der Kugelzellen von Mucorineen als „Hefe“, also als Sproßzustand, was sie eben nicht ist³⁾. Trotz der bisweilen täuschend ähnlichen

1) Went und Prinsen Geerligs l. c.

2) Abspaltung von Alkohol bedingt ja keineswegs notwendig Gasbildung.

3) Bedenken gegen eine Verallgemeinerung dieser Thatsachen liegen kaum vor, übrigens bin ich mit der Prüfung anderer Arten bereits beschäftigt.

Auch die Litteratur stimmt da untereinander wenig überein. So erwähnt z. B. Schröter (Kryptogamenflora Schlesiens. Bd. III. 1. Hälfte. 1889. p. 198 f.) bei keiner Art „Kugelhefe“ (und Alkoholbildung), auch von Tavel sagt nichts über ein Sprossen der Oidien (Vergleichende Morphologie. 1892. p. 33). De Bary dagegen ließ sogar die Sporen noch durch Sprossung sich vermehren

Bilder beweist die plasmolytisch leicht festzustellende Wanddicke (1—2 μ), das vakuolenfreie, dichte Plasma, sowie die Keimschlauchbildung das Gegenteil. Offenbar handelt es sich um einen Ruhezustand, eingeleitet durch irgend welche Momente, deren Diskussion schon deshalb füglich unterbleiben darf, weil ihm im allgemeinen nur ein bescheidener Teil der Hyphen innerhalb derselben Kultur verfällt; möglich, daß da äußere Momente (Alkoholansammlung, Luftmangel oder anderes) mitspielen können¹⁾. Darauf deutet auch das Eintreten gerade in minder zusagenden und nicht in Gärung übergehenden Nährlösungen; jedenfalls ist die mehr oder minder ausgesprochene Neigung zur Kugelgemmenbildung aber eine Eigentümlichkeit der Art.

Faktisch stellen die Hyphen mit der Aufteilung in Kugelzellen ihr Längenwachstum ein, wofür dann nicht selten ein sehr ergiebiges Dickenwachstum auftritt; diejenigen von *M. Rouxii* (in Dextroselösung und Mineralsalzen) lieferten dabei jene bis 100 μ Durchmesser haltenden derbwandigen Kugeln. Regel ist das aber keineswegs, denn die Gebilde können auch sehr klein und relativ zart bleiben, systematisch lassen sie sich übrigens wohl kaum verwerten. Morphologisch sind sie von den innerhalb der Hyphen entstehenden gleichartigen Bildungen (Chlamydosporen) oft nicht zu unterscheiden, da aber die Art der Entwicklung nicht die gleiche ist, darf man beide wohl als „Kugelgemmen“ und „Hyphengemmen“ unterscheiden, allerdings können letztere ja auch rein kugelig sein und richtiger würde man erstere wohl als Oidien²⁾ bezeichnen, wie das manche Bilder (cf. Fig. 18) auch nahelegen. Ganze Hyphensysteme zerfallen in dieser Weise durch überreiche Septenbildung. Die Einstellung des Spitzenwachstums scheint mir direkt dafür anstoßgebend, resp. beides Folge ein und derselben Ursache.

Farbstoffe.

Ein hellgoldgelber bis orangefarbener an Fetttropfen gebundener Farbstoff fand sich bei *M. Rouxii*, *M. javanicus* und *M. dubius*, die Zellwände sind hier durchweg farblos; bei *Rhizopus* und *Chlamydomucor* wurden gelbe Öeltropfen so gut wie nie beobachtet, hier tritt aber häufig Membran-Färbung ein, bei ersterer Art bräunen sich insbesondere die Teile der Sporangien-

(Vergl. Morpholog. u. Biolog. 1884. p. 168), was bestimmt nicht zutrifft. Auch Zopf läßt die Kugelhefe sprossen (Pilze. 1890. p. 315), und ganz neuerdings noch Jörgensen (Mikroorganismen. 1898. p. 123). Ältere Angaben bei Brefeld (Landwirtschaftl. Jahrbücher. 1876), sowie den oben bereits citierten Autoren. A. Fischer spricht gleichfalls von Kugelhefe der einzelnen Arten (Kryptogamenflora Deutschl. II. Aufl. I. 4).

1) Wenn in der Litteratur spärliche Ernährung für die Chlamydosporenbildung, dagegen reichlichere für die Kugelgemmen (Oidien)-Bildung verantwortlich gemacht wird, so muß das nach allem mit Recht beanstandet werden.

2) Cf. auch Brefeld sowie v. Tavel l. c. — Selbst die jungen Mycelien keimender Mucorsporen können alsbald durch Septenbildung zerfallen, wie man das schön bei Aussaat in Würzgelatine (hängender Tropfen) beobachten kann. Das wurde noch kürzlich hier im Laboratorium von Herrn C. Engelke festgestellt.

träger mit zunehmendem Alter, bei letzterer die Gemmen innerhalb des Substrates.

Jedenfalls ist aber das reichlichere Auftreten jenes gelben Oeles an bestimmte Bedingungen gebunden; sehr auffällig war es bei *M. Rouxii* in Kulturen auf Reis (15° C), minder auf Agar- oder Zuckerlösung, wo es erst in älteren Kulturen die Decke (auf Würze) färbt. Bei *M. javanicus* scheint es sich nur bei ausbleibender Sporangienträgerentwicklung merklich anzusammeln. Beachtenswert ist sein Fehlen bei *M. Rouxii* im Brütschrank (auf Reis), bei dem schnelleren Stoffverbrauch hier übrigens nicht auffällig. Auch einige andere *Mucor*-Arten neigen beiläufig zu starker Fettbildung, liefern hierfür also ein gutes Studienobjekt.

Sterilbleiben.

Chlamydomucor war ganz steril, *Mucor Rouxii* erzeugte nur spärlich Sporangien, die überdies noch oft fehlschlügen, ähnliches bei *Rhizopus*, auch *M. javanicus* konnte versagen¹⁾. Auf Gelatine als Substrat erhält man von allen Arten lange Zeit oder dauernd sporenlose Vegetationen. Es ist nicht ausgeschlossen, daß man in dieser Weise durch länger fortgesetzte Kultur von allen Arten steril bleibende Rassen erzeugen kann; auch Hefen büßen bekanntlich durch fortgesetzte Kultur auf Gelatine an Sporenbildungsvermögen ein, die Zersetzungsprodukte (alkalische Reaktion) wirken da vielleicht nachteilig. Derartiges wirkt allerdings nicht allein in dieser Richtung, anscheinend kann auch ein sehr günstiges Substrat gelegentlich den gleichen Erfolg haben, denn Aussaat von zerkrümeltem „Ragi“ auf gedämpftem Reis ergibt oft gleichfalls ganz sterile Vegetationen der verschiedenen *Mucorineen*, und Ähnliches beobachtet man nicht selten unter gleichen Umständen bei *Aspergillus Oryzae* und *A. Wentii*. Auch parasitische Einflüsse können übrigens völliges Sterilbleiben zur Folge haben (*Rhizopus* auf Reis).

Deckenbildung.

Rhizopus und *Chlamydomucor* entwickeln sich auf Flüssigkeiten kultiviert regelmäßig als oberflächliche, in den Luftraum emporsteigende Decke (Luftmycel); auch für *Mucor javanicus* und *M. dubius* ist Deckenbildung die Regel. Anders dagegen bei *M. Rouxii*; hier haben nur sehr günstige Nährlösungen (Würze, Inulin) diesen Erfolg, anderenfalls fristet er als untergetaucht wachsendes Mycel ein träges Dasein (Zuckerlösungen mit Mineralsalzen), und selbst seine Optimaltemperatur ändert daran wenig, eine eigentliche, dicht verwebte, auf der Oberfläche schwimmende Decke kommt nicht zustande.

Wachstumstemperatur.

Bei allen Arten liegt das Wachstumsoptimum oberhalb 30° C

1) Fehlschlagen der Sporangien bei *Rhizopus* giebt auch Went an (l. c. p. 20). Auch ein Durchwachsen kommt vor.

(ca. 35—40°). Es dürfte sich lohnen, festzustellen, ob überhaupt *Mucor*-Arten mit niedrig liegendem Optimum existieren.

Gelatineverflüssigung.

Bei 15° C war die Verflüssigung einer etwa 10-proz. Gelatine durchweg träge; eine merkliche Wirkung ließ sich erst nach Wochen oder Monaten konstatieren. Färbung derselben schwach (gelblich), nur bei *Rhizopus* in älterer Kultur dunkler (bräunlich bis braun).

Stärkeverzuckerung.

Von nennenswerter Wirkung kommen nur *Rhizopus*, *Chlamydomucor* und *M. Rouxii* in Frage; übrigens ist Stärkekleister und Reis für alle gutes Substrat.

Zuckerspaltung.

Milchzucker ist für alle genannten Arten ein ganz untergeordnetes, nahezu wertloses Substrat, Rohrzucker auch für *M. Rouxii*, minder für die übrigen. Malzzucker ist durchweg gut, sein Wert, speciell für *M. Rouxii*, hängt übrigens mit ab von der Art der sonstigen Nährstoffe (wohl Stickstoffquelle insbesondere).

Säuerungsvermögen.

Schwache Ansäuerung der Zuckerlösung findet man durchweg; die Art der Säure ist bislang kritisch, ihre Feststellung erfordert besondere Ermittlungen. Vielleicht handelt es sich wie bei *M. piriformis* A. Fisch. um Citronensäure.

Speciesunterscheidung.

M. Rouxii ist durch die stets zwerghen, sparsamen Sporangienträger mit gewöhnlich nur 2 Sporangien, das träge Wachstum bei Zimmertemperatur (15° C), die gelbe Farbe auf Reis, die meist ausbleibende Deckenbildung bei Kultur in Zuckerlösungen mit Mineralsalzen hinreichend charakterisiert und unschwer wiederzuerkennen²⁾. Mißlicher ist das schon bei *M. javanicus* und *M. dubius*, die sowohl untereinander, wie gegen ähnliche Arten (*M. circinelloides*, *M. alternans*) nicht leicht abzugrenzen sind. Letzteres galt auch für *Rhizopus Oryzae*, zu dem wohl *Chlamydomucor Oryzae* als sterile Form gehören dürfte. Es ist überhaupt die Unterscheidung der *Mucor*- und *Rhizopus*-Species auf Grund der bisherigen Angaben oft eine sehr mißliche Sache¹⁾. Mit mikroskopischen Merkmalen allein kommt man nicht aus, man muß die Kultur als Ganzes ins Auge fassen, und so die Arten ver-

1) Ausgenommen die leichtest kenntlichen Species. Cf. dazu auch Schostakowitsch über sibirische Mucorineen (Ber. Bot. Gesellsch. 1895—98). Ob übrigens nicht einige der Formeigentümlichkeiten dieser Arten mit Folge parasitischer Einflüsse sein können, möchte ich offen lassen. Frei auf Brot etc. kultivierte Mucorineen werden bekanntlich leicht von gewissen Parasiten befallen, selbst in die Reinkulturen meines *Rhizopus* hatte sich — wie oben erwähnt — ein solcher eingeschlichen.

2) Weitere Mitteilungen über die Art machten kürzlich Sitnikoff und Rommel: „Vergleichende Untersuchungen über einige sogenannte Amylomyces-Arten.“ (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. 1900. No. 43—45.) — Anm. bei der Korrektur.

gleichen. Eine Uebersicht unserer Arten ergibt zum Schluß ungefähr folgendes.

Species	Auf Würze (verzuckerter Malzauszug)	Auf Zucker- lösungen mit Mineral- salzen ¹⁾	Auf gedämpftem Reis	Gelatine oder Agar (mit Zucker)	Sehr schlecht nährende Zucker	Gemmen („Kugel- hefe“ ²⁾)
Mucor Rouxii	Gelbliche Decke, Gärungs- erscheinungen, (lebhaftes Wachstum) (15–40° C)	Meist nur submerse Flockenbil- dung ohne Gärungs- erscheinungen, (träges Wachstum) (15–40° C)	Orange- gelber, zarter Beleg, (15° C) (träges Wachstum) (15° C)	Grauer oder gelblicher fädiger Beleg, (träges Wachst.) (15° C)	Milchzucker Rohrzucker (15–40° C)	reichlich (hefe- ähnlich)
M. javanicus	gelbliche Decke,	Wie auf Würze	2–3 cm hoher, grau- gelblicher	Agar: wie auf Reis.	Milchzucker (15–40° C)	reichlich (hefe- ähnlich)
M. dubius	Gärungs- erscheinungen, Sporan- gienrasen kann fehlen, (lebhaftes Wachstum) (15–40° C)		Sporan- gienrasen	Auf Ge- latine meist weißes (steriles) Luft- mycel (15° C)		
Rhizopus Oryzae	Schneeige Decke mit 1–2 cm hohem graubraunen Sporan- gienrasen, Gärungs- erscheinungen fehlen, (lebhaftes Wachstum) (15–40° C)	Wie auf Würze	dichter, hoher (2–4 cm) graubrauner Sporan- gienrasen (15–40° C) lebhaftes Wachstum	hoher, oft schnee- weißer Rasen (steril)	Milchzucker	spärlich
Chlamydo- mucor Oryzae	Schneeweiße Decke mit ebensolchem Luftmycel (steril), Gärungs- erscheinungen fehlen, (lebhaftes Wachstum)	Wie auf Würze	Schneeiger Rasen (Luftmycel)	Wie auf Reis	—	spärlich

1) Hier ist immer das obengenannte Gemisch zu verstehen.

Die morphologischen Unterschiede der drei besser charakterisierten Pilze stellen sich wie folgt:

		<i>Mucor Rouxii</i>	<i>Mucor javanicus</i>	<i>Rhizopus Oryzae</i>
Sporangienträger	Größe:	ca. 1 mm	2—3 cm	2 mm und darüber
	Verzweigung:	wechselt	cymös	meist einfach (auch gabelig, wirtelig u. a.)
	Sporangienzahl:	meist 2	unbestimmt (bis 6 und darüber)	meist 1, (auch 2—3)
Sporangium	Größe:	ca. 50 μ Dm. (schwach abgeplatt.)	verschieden obere ca. 20 μ Dm. untere ca. 50 μ Dm. (mit allen Zwischenwerten)	verschieden groß, ca. 150 μ im M.-Dm., (100—180 μ , auch kleiner)
	Farbe:	hell bis gelblich	hellgelb bis bräunlich und braun	braunschwarz
	Wand:	meist glatt, zerfließlich, durchsichtig, deutlichen Kragenrest hinterlassend	meist glatt durchscheinend, zerfließlich (untere) oder zerbrechlich (obere) zarter Kragenrest	glatt, jung: zerfließlich, alt: zerbrechend, dunkel
	Columella:	kugelig (schwach abgeplattet), hell, 20—23 \times 28—32 μ , nicht aufsitzend	meist kugelig, farblos, 10—35 μ Dm., (obere 10, untere ca. 35 μ), nicht aufsitzend	verschieden groß, ca. 80—120 μ i. Dm., kugelig (auch oval oder breiter) einschl. Apophyse, aufsitzend
Sporen	Größe:	5 \times 3 μ , ziemlich gleichmäßig	ungleich, meist 5—7 \times 4—5 μ , bis 3,5 \times 2,8 μ herab	ungleich, meist 6—8 μ Dm. (Grenzen: 3,6—9,5 μ)
	Gestalt:	ellipsoidisch (bis bohnenförmig)	ellipsoidisch, auch kugelig, ungleich	ungleich, kugelig-ellipsoidisch bis eckig
	Farbe:	farblos	ziemlich farblos	grau oder farblos (auch gelblich)

Tafelerklärung.

Rhizopus Oryzae (Fig. 1—6 und 8—10).

Fig. 1. Kultur auf gedämpftem Reis (nach Photographie, verkleinert).

Fig. 2—3. Sporangienträger (teils Lupenbilder, schwach vergrößert) und Columella-Formen. Bei b Sporenmasse durch Druck (unter Deckglas) von Columella abbrechend. a = umgekrempfte Columella.

Fig. 4—6. Sporen (stärker vergrößert, frisch), in Wasser liegend (Fig. 4), in Glycerin (Fig. 5) und aus älterem Sporangium (Fig. 6). In Fig. 5 tritt Unterschied zwischen den derbwandigen (grauen) und zartwandigen (farblosen) hervor, erstere jetzt eckig.

Fig. 7. Sporen von *Rhizopus nigricans* (Durchm. 8—10 μ).

Fig. 8. Hyphengemmen aus Zuckerlösung.

Fig. 9—10. Kugelgemmen aus Bierwürzekultur, teils hefeähnlich (Fig. 9 h), aber mit Keimschlauch ansteimend (k).

Mucor Rouxii Fig. 11.

Fig. 11. Gemmen aus Bierwürze, teils keimend (k), und der Keimschlauch wieder zerfallend (k), bei p unter Glycerineinwirkung (derbe Wand). — Die Bilder wurden hier als instruktive Ergänzung zu Taf. I von *M. Rouxii* aufgenommen.

- Chlamydomucor Oryzae Fig. 12—14.
 Fig. 12. Mycel aus Bierwürzekultur.
 Fig. 13. Gemmen (wohl Hyphengemmen) aus Agarkultur mit dicker, geschichteter Wand, größere bis 130 μ Durchm. messend.
 Fig. 14. Desgl. aus einer Reiskultur.
 Mucor dubius Fig. 15—23.
 Fig. 15. Sporangienträger, Lupenbild, etwas vergrößert.
 Fig. 16—17. Desgl. aus mikroskopischem Präparat.
 Fig. 18. Sporangium, entleert.
 Fig. 19. Sporen, bei p in Glycerin liegend.
 Fig. 20—21. Hyphengemmen.
 Fig. 22—23. Aufteilung von Mycelien in Kugelgemmen.
 Ueber Größenangaben cf. den Text.

Nachdruck verboten.

Die „Chinesische Hefe.“

Mucor Cambodja, eine neue technische Pilzart; nebst einigen Beobachtungen über Mucor Rouxii.

[Aus dem gärungs-physiologischem Laboratorium von
 Alf. Jörgensen in Kopenhagen.]

Von T. Chrząszcz.

Mit 2 Tafeln.

Die Flora der Schimmelpilze, welche im Osten zu technischem Zwecke, die Stärke umzubilden, verwendet wird, ist ziemlich verschieden. Der erste Schimmelpilz, welchen wir als diastatisch wirkend und, der in Japan zur Sakebereitung benutzt wird, kennen gelernt haben, war *Aspergillus Oryzae*¹⁾. Nachher kommen andere, wie *Mucor Rouxii*²⁾, und diesem ähnliche³⁾, *Aspergillus Wentii*⁴⁾, *Chlamydomucor Oryzae*, *Rhizopus Oryzae*⁵⁾, *Mucor javanicus*⁶⁾. Das zeigt, daß solche Pilze dort stark verbreitet sind, daß die Zahl der diastatisch wirkenden, welche dort benutzt werden, und die wir bis jetzt kennen, noch nicht abgeschlossen ist; die kommenden Jahre mit weiterer Forschung in dieser Richtung werden uns wahrscheinlich zahlreichere Floren ähnlicher Art zeigen. Ja, auch das ist höchst möglich, daß unter diesen uns noch nicht bekannten sich solche Arten verbergen, die viel stärker wirkend, größere Verzuckerungskraft besitzen. Daß es mir zu der Zahl der bekannten diastasierten Schimmelpilze wieder eine neue Art zu geben erlaubt ist, spricht für die Richtigkeit meiner Auffassung.

1) Hier verweise ich nur auf diese Arbeiten, welche gleichzeitig eine Uebersicht von der Litteratur gewisser Schimmelpilze angeben: Wehmer, *Aspergillus Oryzae*. *Centrabl. f. Bakt.* 2. Abt. Bd. I. p. 150; Kozai, *Centrabl. f. Bakt.* Bd. VI. p. 386.

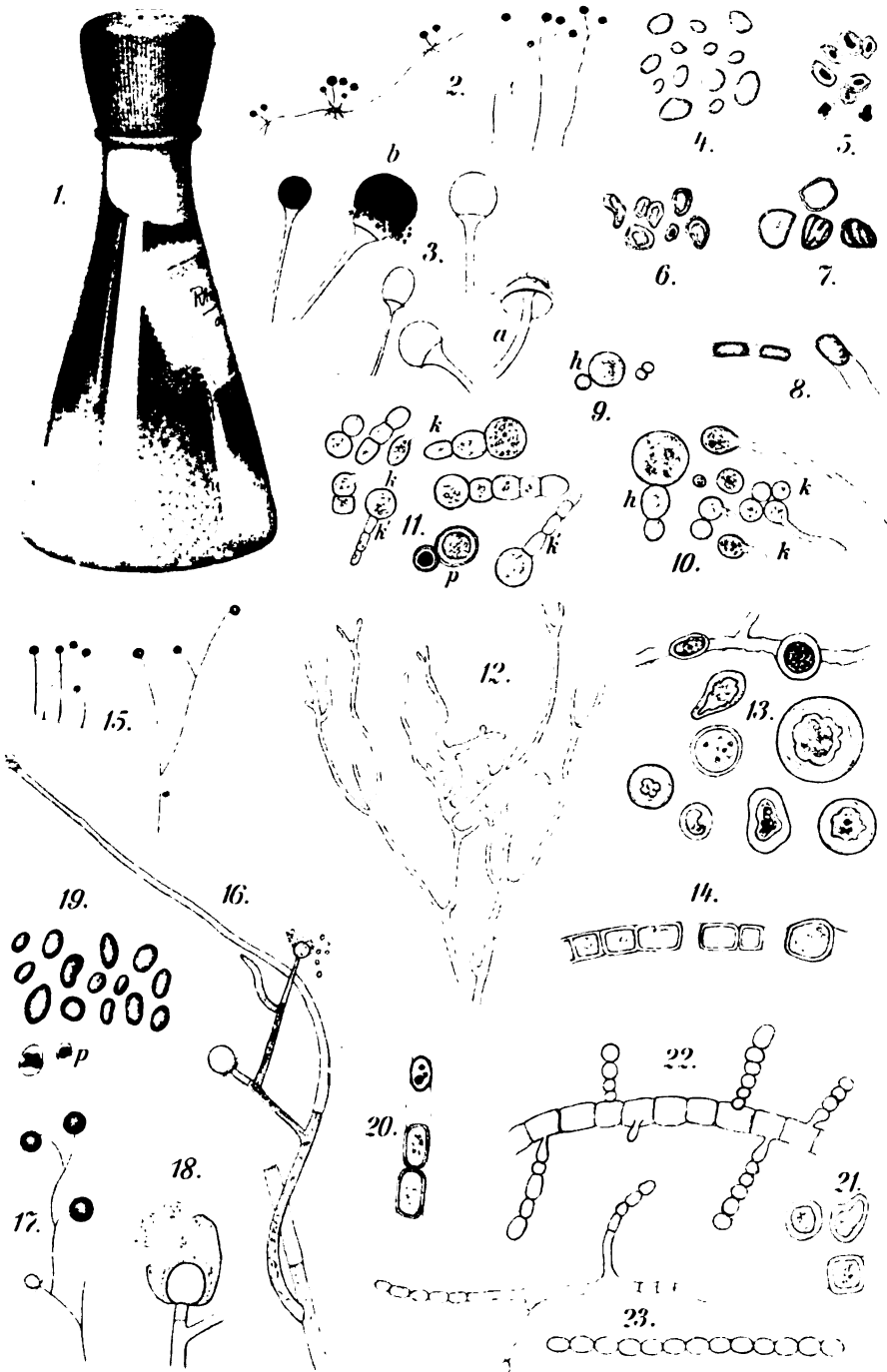
2) Calmette, *La levure chinoise*. (*Ann. de l'Inst. Pasteur.* T. VI. 1892); Wehmer, *Centrabl. f. Bakt.* Bd. VI. p. 353.

3) Sitnikoff u. Rommel, *Wochenschr. f. Brauerei.* Jahrg. XVII. No. 42.

4) Wehmer, *Centrabl. f. Bakt.* Bd. II. p. 140.

5) Went u. Prinsen Geerligs, *Verhandelingen d. koninkl. Akad. v. Wetenschappen t. Amsterdam* 2. Ser. T. IV. 1895. No. 2.

6) Wehmer, *Centrabl. f. Bakt.* Bd. VI. p. 610.



Wir wissen, daß das im Osten benutzte Stärkematerial gewöhnlich Reis ist; doch werden auch andere Stärkesurrogate verwendet. Jedoch schon in der Zubereitung des Reismaterials herrscht große Verschiedenheit. Je nach der Ortschaft wird die Stärke mit verschiedenen zahlreichen Gewürzarten gemischt¹⁾, welche dem Rohmaterial, wie auch den später erhaltenen Produkten einen Geruch und auch Geschmack verleihen. Es ist sehr möglich, daß eben diese Zubereitung Einfluß auf die Flora hat, und je nach der Ortschaft und Bereitung des Stärkematerials haben sich auch verschiedene Arten eingebürgert.

Die Chinesische Hefe.

Von der Sammlung des hiesigen Laboratoriums habe ich zweierlei Material bekommen, und zwar die Chinesische Hefe von Saïgon und von Cambodja²⁾.

Ich habe mir die Frage gestellt: Sind die bekannten Arten in der Chinesischen Hefe die wirksamsten? — Vielleicht kann ich eine Variation bekommen, die größere Verzuckerungskraft besitzt, ja möglicherweise neue Species.

Schon die oberflächliche Vergleichung dieser zwei Materiale zeigt, daß es sich hier um 2 ganz verschiedene Arten handelt, obwohl beide Kuchen von Reismehl verfertigt sind³⁾.

Die Reismehlkuchen, welche von Saïgon stammen, sind, wie die Abbildung Taf. I. No. 1 zeigt, rundliche, abgeplattete, im Durchmesser 5 cm, in der Mitte 2 cm, am Rande 1.5 cm dicke Kuchen. Sie sind aus grobem, mit Spelzen gemahlenem Reis bereitet, deren Oberfläche gefalten ist, und aus derber, dicker, rotbrauner Haut besteht; im Boden, welcher dunkelgelb ist, stecken die gespelzten Reiskörner. Im Bruche zeigen sie sich schmutzweiß und geben einen durchdringenden würzigen Geruch, der einen schimmeligen Stich hat. Die mikroskopische Untersuchung zeigt, daß diese derbe, gefärbte Haut der Kuchen aus Schimmelpilzmycelium besteht, in welchem man viele Gemmen sehen kann. Die innere Stärkepartie zeigt vereinzelte Gemmen. Von diesem Kuchen kann man mit großer Leichtigkeit einen wirksamen Schimmelpilz isolieren, welcher mit *Mucor Rouxii* übereinstimmt.

Vergleichen wir diese Kuchen mit solchen von Wehmer⁴⁾ beschriebenen, so geht daraus hervor, daß nicht nur die Form, sondern auch das Material, aus welchem diese bereitet werden, variieren, daß sie sich je nach der Ortschaft, möglicherweise auch nach der Fabrik, wo sie gemacht werden, unterscheiden.

Jedoch der Unterschied dieser 2 Arten von Kuchen, die von Wehmer als javanisches Ragi beschrieben, und der von Saïgon unter einander ist noch nicht so groß, als diese beiden und der von Cambodja stammende Kuchen.

1) Eijkman, Centralbl. f. Bakt. 1894. p. 97.

2) Das Material wurde dem obengenannten Laboratorium von Dr. Calmette im Jahre 1895 geliefert.

3) Calmette beschreibt ähnliche. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. VI. 1892.)

4) Hier meine ich die Kuchen, von welchen *M. Rouxii* isoliert wurde (s. o. Litteraturangaben).

Wie die Taf. I No. 2 illustriert, bestehen die Kuchen aus 2 kugelförmigen, etwas abgeplatteten, zusammenhängenden Teilen von 3 cm im Durchmesser. Die Höhe der Kugel beträgt 2,5 cm, die Breite der Verbindung 2 cm. Diese Kuchen, von feinem, sehr angenehmem, zartem, würzigem Geruche, sind mit gelber Haut bedeckt, die viel dünner als bei der vorher beschriebenen Art ist, und besteht auch aus Schimmelpilzmycelium (Hyphenstücke mit sehr vielen Gemmen). Das Material, aus welchem diese Kuchen bereitet werden, ist feingemahlene Reisstärke ohne Spelzen; im Bruch sind sie gelbweiß; zwischen den Fingern verpulvern sie sich leicht. Unter dem Mikroskope zeigen sich in Stärkepartikeln nur wenige Gemmen.

Die Isolierung des hier wirkenden Schimmelpilzes war ziemlich schwierig. Denn auf der Gelatine haben die gelatineverfließenden Arten von Bakterien die Oberhand gewonnen, und lassen den Schimmelpilz nicht zur Entwicklung kommen. Erst auf gedämpften Reiskörnern habe ich diese Trennung durchgeführt.

Die hier isolierte verzuckert wirkende Art ist eine neue, sehr interessante *Mucor*-Species, für welche ich den Namen *Mucor Cambodja* vorschlage, nach der Ortschaft, wo die *Mucor*-Art technische Verwendung findet.

I. *Mucor Cambodja*.

A. Morphologisches.

Wenn der Pilz sich von der Spore oder Gemme auf gutem Substrate zu entwickeln beginnt, und hier ist es gleichgiltig, ob diese eine Flüssigkeit oder ein fester Nährboden ist, so bildet er ein steriles, schwach verzweigtes, sich flach verbreitendes Mycelium. Das ist das erste Stadium der Entwicklung. Sobald dies geschehen ist, treibt das entstandene Substratmycel von verschiedenen Punkten vereinzelt weiße Fäden empor, und jetzt kommt das Luftmycelium zur Entwicklung. Diese hinaus kriechenden Ausläufer, Stolonen, welche in allen Richtungen wachsen, sind von variabler Länge von 120 μ bis 8,5 mm oder noch mehr. Sistieren sie ihr Längswachstum, so senken sie darauf ihre Spitze zur Unterlage und entsenden feine verkrümmte, verzweigte Schläuche, Rhizoiden; gleichzeitig schwillt das oberhalb der Rhizoiden verzweigte Ende etwas an. Mit der Entwicklung der Rhizoiden beginnen angeschwollene Hyphen von verschiedenen Punkten der Stolonen sich zu erheben, welche sich nachher zu Sporangien entwickeln. Das Mycelium ist, solange die Sporangien noch nicht reif sind, ganz weiß, später nimmt es einen schmutzig-weißen Ton an, indem die Enden der Stolonen sich braun färben. Mit fortschreitendem Alter der Kultur gewinnt auch die Farbe an Intensität; auch zeigen sich große Oeltropfen, die manchmal einen Teil der Fäden ausfüllen. Kulturen in Flüssigkeiten und schlechten Nährsubstraten sind gewöhnlich stärker gefärbt. Die Höhe der Kultur beträgt 10—20 mm.

Das ganze Mycelium samt Stolonen und Sporangienträger sieht so aus, als wäre es eine einzellige Kultur; denn ich habe nirgends Querwände gesehen. Erst im älteren Stadium treten auf manchen

Punkten der Fäden Scheidewände hervor, welche große tonnenförmige oder unregelmäßige, mit stark granuliertem Plasma gefüllte Zellen abgrenzen. Das ist jedoch nicht eine gewöhnliche Querwandbildung; denn die oben erwähnten Zellen schwellen nachher immer mehr an, nehmen eine ovale oder eiförmige Gestalt an, die Zellwand verdickt sich, das Plasma wird nicht so grobkörnig und ist lichtbrechend. Solche getrennte Zellen keimen wie gewöhnliche Chlamydosporen. Also hier kommt nur das Gemmenbildungsphänomen in Luftmycelium vor, dasselbe, nur viel reicher, kann man bei *M. racemosus*, *Rouxii* etc. observieren. Scheidewände zeigen sich noch bei einigen Rhizoiden.

Sehr oft kann man in den Fäden starke Plasmaströmung sehen.

Die Ausläufer, welche von 2,2—14 μ im Durchmesser sind, treten von Substratmycelium empor, und an ihren Enden bilden sich Haftorgane. Bei *Rhizopus*-Arten gehen die Stolonen von einem Knoten zum anderen und ihr Längenwachstum beschränkt die Ausläuferknoten. Bei *M. Cambodja* kommt diese oben geschilderte Entwicklung nur sehr selten vor, gewöhnlich geschieht sie auf folgende Weise: Von Substratmycel schieben sich die Ausläufer empor. Auf einem Punkte ihres Wachstums verzweigen sie sich (Fig. 4), es treten Seitenäste auf, die während ihres Bahnwachstums sich wieder verzweigen können. Die Hauptfäden kriechen in dieser Zeit weiter vor, bis sie ihr Längswachstum sistieren, um Haftorgane zu entwickeln; von diesem Knoten jedoch geht kein Stolon mehr aus. Es kommt auch vor, daß ein solcher Ausläufer während seines Wachstums sich mehrere Male verzweigt, ohne trotzdem eine Scheidewand zu bilden. Dagegen andere, welche keine Verzweigung produzieren, entwickeln sich so lange, bis sie einen Knoten bilden, hier bleiben sie stehen und treiben nur Sporangienträger; um eben das nachzubilden, was diese letzteren versäumt haben, verzweigen sich die anderen mehre Male.

Die Rhizoiden sind am stärksten gefärbt. Anfangs, also ganz jung, sind sie grauweiß, später nehmen sie eine braune Farbe an, die mit dem Alter der Kultur noch dunkler wird. Bei diesem *Mucor* kann man zweierlei Haftorgane unterscheiden, und zwar stark und schwach verzweigte. Erstere kommen selten vor, und auf diesen treten manchmal sogar in jungem Stadium diese schon vorher erwähnten Querwände hervor, wie Fig. 5 zeigt. Dagegen sind sie gewöhnlich schwach verzweigt und sogar sehr schwach lappig (Fig. 4). Sie bestehen entweder aus einem dicken Hauptstiel, welcher feinere Seitenäste treibt, oder aus einigen Rhizoiden von derselben Dicke (Fig. 6). Alle Rhizoiden sind ziemlich dick, die Enden haben 2,9—7,4 μ Durchmesser und sind nicht so büschelig und fein, wie z. B. bei *M. stol.*

Die Sporangienträger erheben sich von Stolonen, jedoch nicht von einem Punkte, wie bei den bekannten *Rhizopus*-Arten, oder in doldiger Anordnung (*Rh. arrhizus*), sondern sie sind manchmal auf große Teile der Ausläufer verteilt (Fig. 4). In der Wachstumsordnung, Gestalt und Zahl der Sporangienträger herrscht große

Verschiedenheit. Diese Verteilung der Sporangienträger ist eine solche, daß sie entweder nebeneinander in größerer Menge wachsen, oder vereinzelt vom Stolon auslaufen (Fig. 7). Dies jedoch nur selten, gewöhnlich 3—5 in der Nähe, und die Zahl hebt sich bis 8. Der Stiel ist von wechselnder Länge, von 78μ bis 1 mm, aufrecht in die Höhe ragend, oder gebogen bis nickend, braun gefärbt, von $7,2$ — 14μ Dicke. Manchmal zeigen sich eigentümliche keulenförmige oder kugelige Anschwellungen, welche große Aehnlichkeit haben mit dem, was Sitnikoff und Rommel bei den β - und γ -Amylomyces gesehen haben¹⁾ (Fig. 8 u. 9). Die Verzweigung der Sporangienträger kann höchst verschieden sein. Der Sporangienträger zeigt bisweilen eine gabelige Teilung mit zwei gleich großen Seitenästen (Fig. 10); bisweilen treibt er einen kleinen Seitenzweig, welcher sofort ein Sporangium entwickelt; die Achse verlängert sich bedeutend, um schließlich am Ende ein Sporangium zu bilden (Fig. 11). Diese Verzweigung kann im unteren Teil der Träger vorkommen, oder dies geschieht erst unweit der Sporangien, welche so nahe zusammen sein können, daß die Kolumellen fast von einem Punkte auswachsen (Fig. 12). Eine andere Art von Verzweigung zeigen Fig. 8 u. 9. Hier entwickelt sich zuerst ein Stiel, der etwas oder sogar sehr stark angeschwollen sein kann, und erst dieser treibt eine verschiedene Zahl von Sporangienträgern aus. Die Sporangien sieht man in einer Kultur makroskopisch sehr deutlich. Junge sind grau, später hellbraun, die immer dunkler werden, schließlich schwarzblau und in der alten Kultur (1 Monat) schwarzbraun. Sie sind kugelig, sehr selten etwas gestreckt, von verschiedener Größe, 109 — 47μ , vielsporig, aufrecht oder nickend, am Träger sich öffnend. Sporangienwand nicht cuticularisiert, glatt, leicht ganz zerfließend, ohne Basalkragen. Kolumella von $44,2$ bis $25,7 \mu$ Breite und $44,2$ — 22μ Höhe, breit aufsitzend, von kugelig hochgewölbter, halbkugeliger bis ganz kugeliger Form (Fig. 14); sie kann auch eigentümliche, nelkenartig anschwellende Verlängerung annehmen (Fig. 13). Wenn die Sporen nach Auflösung der Fruchtwand frei geworden sind, wird die Kolumella wie ein Regenschirm auf den Sporangienträger umgestülpt, an dem die Ansatzlinie der Außenwand in Form einer Ringleiste angedeutet bleibt (Fig. 15), wie bei *M. stolonifer*.

Sporen in größerer Masse, also in Fruchtkörpern, sind schön blauschwarz in junger Kultur, in älterer braunschwarz. Vereinzelt sind sie hell bläulichgrau und matt, am Rande dunkler gefärbt. Sie sind von verschiedener Größe, $4,2$ — $7,4 \mu$ Länge und $3,7$ — $5,2 \mu$ Breite, meist länglich, auch rundlich-eckig und glattwandig, mit dicker Membran (Fig. 16). Es zeigen sich auch eigenartige Zusammenwachsungen von Sporen, die amöbenartige Form annehmen (Fig. 17). Diese Zusammenwachsung geschieht entweder bei der Entwicklung, und dann zeigen sie sich sehr zahlreich, ja es kommen sogar ganze zusammengewachsene Klumpen von Sporen vor, oder erst in alter Kultur. Die Ursache konnte ich nicht ausfindig machen, denn

1) Wochenschrift f. Brauerei. Jahrg. XVII. No. 42.

dieses Phänomen erscheint sehr unregelmäßig, manchmal, wie ich gesagt habe, in junger, manchmal erst in alter Kultur, wieder in anderen Kulturen ist es nur spärlich vorgekommen. Ich habe von einer und derselben Kultur mehrere große feuchte Kammern gemacht, auch hier hat sich dieselbe Unregelmäßigkeit gezeigt. Am häufigsten giebt es jedoch auf auf gutem Nährsubstrat, also Nährgelatine mit genügender Luftzufuhr gezüchteten Kulturen solche Sporen; bei schlechtem Nährboden habe ich nur kleine, vereinzelte, glänzende Sporen bekommen.

Die Gemmen (Chlamydosporen) kommen nicht oft vor; etwas reichlich in Flüssigkeiten, namentlich in Saccharosehefewasser und in alter Kultur im Luftmycelium, jedoch niemals auf dem Sporangienträger. Sie sind bald farblos oder gelblich, mit dicker, deutlich geschichteter glatter Membran und farblosem, meist glänzendem Inhalte. Ihre Größe variiert zwischen $67,5-15,8 \mu$ Länge und $32,2$ bis $5,2 \mu$ Breite, sie sind sehr verschieden gestaltet, bald cylindrisch oder tonnenförmig, bald ellipsoidisch, eiförmig bis kugelig; ihre Auskeimung habe ich nach 2 Stunden in 35°C beobachtet.

Zygosporen, wie auch sogenannte Hefebildung kamen nirgends zum Vorschein.

B. Physiologisches.

Die verschiedenen Nährsubstrate haben einen großen Einfluß auf die Entwicklung dieses Mucor und auf sein Vegetationsaussehen. Auf festem Substrate gezüchtet, verhält er sich höchst verschieden. Obwohl es ein Pilz ist, der bei einer höheren Temperatur besser gedeiht, giebt er doch eine kräftigere Vegetation auf den Gelatinenährsubstraten bei einer niedrigen Temperatur, als auf Agarplatten bei einer höheren, also ganz dasselbe wie bei *M. Rouxii* (s. u.). Von den Agarsubstraten entwickelt sich der Pilz am besten auf Nähragar, also Agar mit verschiedenen Salzen (Raulin), und nachher auf Würzeagar; alle anderen Substrate haben sich als schlecht gezeigt. Z. B.: Auf Laktoseagar gezüchtet, wächst er sehr kümmerlich, giebt einen niedrigen Rasen, der $0,4$ mm hoch war (auf gutem Substrate $10-20$ mm). Das ganze Mycel war dunkelbraun gefärbt; die Rhizoiden waren dick und kurz; die Sporangienträger wuchsen aus Ausläuferknoten hervor; Stolonen nur sehr kurz und spärlich; Sporangien klein, mehr braun als schwarz, mit einer dicken Membran, welche bei Reifung durch Sporendruck bricht, jedoch nicht zerfließt, sondern sich bei der Kolumella hält; Sporen auch klein mit stark lichtbrechendem Plasma. Mit einem Wort, die Kultur sieht so aus, als möchte sie nichts Gemeinschaftliches mit dem *M. Cambodja* haben. Dagegen zeigt sich die Nährgelatine als ein gutes Substrat. In Petri-Schale auf Würzegeleatine gezüchtet, giebt er nach 2 Tagen bei 25°C eine 10 mm hohe Kultur, welche anfangs weißbläulich, später bläulich-grau und zuletzt grau ist. Von allen Nährböden zeigt sich jedoch die gedämpfte Reisstärke als die beste, hier wächst er schnell und immer mehr empor (über 20 mm). *M. Cambodja* braucht zu seiner Vegetation viel Luft und zeigt sogar auf besten Substraten

eine Abschwächung (spätere Sporangien, wenig von diesen), wenn nicht genügende Luftzufuhr stattfindet.

Flüssige Substrate sind nicht so gut als feste, wie Reis oder Gelatine. Mycelium entwickelt sich auch hier stark, dessen größter Teil unter die Oberfläche der Flüssigkeit getaucht ist, und erst wenn eine dicke Schicht, die ganz derb ist, gebildet ist, beginnt das Luftmycel zu wachsen. Die Fäden, welche sich in der Flüssigkeit befinden, sind gewöhnlich dünner als die oberflächlichen; sie sind ziemlich stark verzweigt, und man sieht verhältnismäßig viele Scheidewände. Diese Zellen schwellen langsam an und gehen in Gemmen über, nachher trennen sie sich voneinander oder bleiben an Fäden hängen. Die Gemmenbildung ist, wie ich schon vorher erwähnt habe, spärlich; am reichlichsten bildet sie sich in dem Saccharosehefewasser.

Der Pilz wurde kultiviert in Dextrose, Lävulose, Saccharose, Maltose, Laktose, süßer Würze, gehopfter Würze und Doppelbier. Die beste Flüssigkeit ist süße Würze, und hier kommt ein kräftiges Mycelium mit vielen Sporangien hervor. In den anderen wächst er nicht so gut, es entwickelt sich ein dickes, derbes Mycel in der Flüssigkeit, nachher zeigt sich Luftmycelium mit wenigen Sporangien; hier hat die Temperatur einen Einfluß, 30—40° C ist als die beste zu bezeichnen. Das schlechteste scheint Saccharose zu sein. Die Entwicklung geht nur langsam vor sich, es zeigen sich viele Gemmen, das Luftmycelium und auch die Sporangien sind bräunlich bis dunkelbraun. Obwohl sich auf allen oben erwähnten Flüssigkeiten in Freudenreich'schen Kölbchen ein stärkeres oder schwächeres Luftmycelium zeigt, so giebt doch der in größeren Dimensionen in großen Pasteur-Kolben gezüchtete *Mucor* eine ziemlich dünne Decke, ohne Luftmycelium zu entwickeln.

Wirkung.

Gelatineverflüssigung. Um solche nichtssagende Ausdrücke, wie schwache, starke u. s. w. Verflüssigungskraft, welche in der Litteratur sehr oft vorkommen, zu vermeiden, und jedem ein deutliches Bild vor die Augen zu stellen, habe ich diese Bestimmung auf folgende Weise ausgeführt: Eine Freudenreich'sche Flasche füllte ich mit 7 ccm Gelatine, nachher legte ich die Flasche so schräg, daß nach der Erstarrung die Gelatine in ganzer Länge der Flasche sich so ausbreitete, daß zur Hälfte der Boden frei war. In einer solchen Flasche machte ich am besten eine Aussaat der Kultur in der Oberhälfte der Gelatine durch einen Strich mit einer Nadel. Jetzt konnte man sie bei beliebiger Temperatur halten und beobachten, wann die verflüssigte Gelatine mit einer dünnen Schicht den freien Bodenteil bedeckte; man konnte weiter notieren, wann die ganze Gelatine verflüssigt wurde oder wie hoch die Säule der flüssigen Gelatine war. Auf solche Weise behandelt, bekam ich bei *M. Cambodja* bei einer Temperatur von 25° C einen bedeckten Boden von verflüssigter Gelatine nach 48 Stunden, das ist eben die Zeit, wo das entwickelte Mycelium sich 9 mm hoch zeigte. Nach 14 Tagen war die Schicht der stehenden Flüssigkeit 7 mm hoch. Bei einer Temperatur von 15° C

war erst nach 14 Tagen der Boden des Fläschchens mit kaum verflüssigter Gelatine bedeckt. Die parallel mit *M. Rouxii* ausgeführte Untersuchung zeigte, daß die Verflüssigungskraft des letzteren eine schwächere war, denn nach 48 Stunden bei 25° C war der Boden zwar auch mit Flüssigkeit bedeckt, jedoch war nach 14 Tagen die Schicht der verflüssigten Gelatine 5 mm hoch, und bei einer Temperatur von 15° C war der Boden nach 14 Tagen mit Gelatineflüssigkeit noch nicht bedeckt; dies geschah erst nach 18 Tagen.

Gasentbindung. Wenn die vorher erwähnten Nährflüssigkeiten sich mit einer Decke von Mycelium bedeckt haben, so zeigten sich deutlich große Gasblasen, welche sich unter der Decke ansammelten. Diese Gasentbindung wurde bei 15—45° C beobachtet und zeigte sich von verschiedener Stärke. Am reichlichsten kamen diese Blasen bei einer Temperatur von 30—40° C vor und sie konnten sogar das Mycelium von der Flüssigkeit emporheben, denn die Myceliumdecke war so derb, daß die Gasblasen sich nur mit Schwierigkeit durchbrachen. Bei allen geprüften Zuckerarten folgte diese Gasentwicklung, jedoch nicht mit gleichartiger Stärke. Die kräftigste fand ich bei Dextrose, im Gegensatz zu Maltose, Laktose, Saccharose und besonders süßer Würze, wo sie kaum sichtbar war.

In allen Fällen der Gasentbindung konnte ich mit Jodoformreaktion den Alkohol nachweisen.

Alkohol- und Säurebestimmung. Um diese auszuführen, benutzte ich zweierlei Substrate, und zwar: a) gehopfte Bierwürze mit spez. Gewicht = 1,047 = 11,690 Proz. Extrakt; nach Impfung mit Sporen habe ich die Kultur bei 40° C im Thermostaten 10 Tage hindurch gehalten. b) 10 Proz. Dextrose mit 0,5 Pepton; 0,25 Proz. schwefelsaure Magnesia und 0,25 Proz. Monokaliumphosphat wurde mit Kultur im Brütschranke bei 35° C 20 Tage lang gehalten. Die Untersuchung wurde in 1/2 l-Pasteur-Kolben mit 350 ccm Flüssigkeit durchgeführt.

Das Resultat schildert die angegebene Tabelle:

Substrat	Alkohol Gewichts-Proz.	Säure in 100 ccm Flüssigkeit
Gehopfte Bierwürze	0,49	11,4 $\frac{1}{10}^n$ NaOH
Dextrose	1,06	12,7 $\frac{1}{10}^n$ „

Die Stärkeverzuckerung. Die Wirkung dieses Pilzes auf Stärke ist eine andere, als bei *M. Rouxii*; während der letztere direkt die Stärke angreift, lockert *M. Cambodja* zuerst diese. Was die Wirkung der Stärke anbelangt, so habe ich, um parallel zu vergleichen, auf Reispasta in 300 ccm fassenden Erlenneyer-Kolben gezüchtet, und zwar habe ich in einem Kolben *M. Rouxii*, in einem zweiten *M. Cambodja*, in einem dritten beide *Mucor* zusammen geimpft und bei 35° C während 7 Tagen wachsen lassen. Das Resultat zeigte sich in folgenden Zahlen:

Es wurde durch 7 Tage verzuckert	<i>Mucor</i> <i>Rouxii</i>	<i>Mucor</i> <i>Cambodja</i>	Beide <i>Mucor</i>
	41,10 Proz.	38,35 Proz.	52,75 Proz.

Also wirken sie zusammen stärker, als jeder allein. — Schließlich konnte ich noch auf Reispasta die Bildung eines angenehmen, esterartigen, nach einem säuerlichen Stich riechenden Stoffes bemerken.

Temperatureinfluß. Das Temperaturoptimum liegt zwischen 35—40° C, jedoch kann man eine Temperatur zwischen 25—40° C benutzen, ohne einen größeren Unterschied in der Entwicklung zu sehen. Bei einer Temperatur, die in der Nähe von 25° C liegt, zeigt sich eine Verlängerung der Sporangienreifungszeit; bei 15—25° C wächst die Kultur langsam, und bei einer niedrigeren als 10° C kommt die Entwicklung des Pilzes gar nicht mehr vor. Bei einer höheren Temperatur als 40° C zeigt sich die Vegetation schnell, jedoch mit wenigen Sporangien. Mit weiterer Temperatursteigerung nimmt die Myceliumentwicklung ab. Bei 63° C während 5 Minuten wurde das Mycelium samt Gemmen getötet. Die Sporen vertrugen eine höhere Temperatur, denn sie wurden noch nicht bei 65° C während 5 Minuten getötet. Läßt man 5 Minuten lang auf 69° C steigen, so zeigen sie im Brütschranke bei Optimumtemperatur keine Entwicklung mehr. Für die Stärkeumbildung zeigte sich die günstigste Temperatur etwas höher als 35° C, also ähnlich wie bei *M. Rouxii*.

Wenn wir alle geschilderten Merkmale zusammenfassen und sie mit den bekannten Arten vergleichen, so geht daraus hervor, daß hier eine neue *Mucor*-Species vorliegt, welche einerseits eine mittlere Stelle zwischen *Rhizopus*-Arten und andererseits zwischen allen anderen *Mucorineen* einnimmt, und diese mittlere Stelle ist viel schärfer, als bei *Rhizopus Oryzae*. *Mucor Cambodja* zeigt ein Substratmycel, das kräftiger ist, als bei anderen *Rhizopus*-Arten. Von diesen laufen die verzweigten Stolonen aus, die zwar in Ausläuferknoten endigen, jedoch nur ausnahmsweise aus diesen auswachsen. Die Haftorgane sind ziemlich dick und gewöhnlich schwach verästelt, und nicht nur von diesem, sondern auch von einem anderen beliebigen Punkte der Stolonen können sich die Sporangienträger erheben, welche sich auch verzweigen können. Schließlich ist die Kolumella nicht nur halbkugelig, also typisch *M. stolonifer* ähnlich, sondern sie kann auch ganz kugelig sein. Das alles spricht für eine Uebergangsart, die jedoch eine mittlere Stelle zwischen *Rhizopus*-Arten und anderen *Mucorineen* annimmt.

C. Diagnose.

Mucor Cambodja, neue, leicht erkennbare Species.

Das junge Mycelium ist weiß, nachher blaugrau und grau, von einer Höhe von 10—20 mm. Von einem schwachen Substratmycel heben sich Stolonen empor von 2,2—14,8 μ im Durchmesser, und von 120 μ bis 8,5 mm Länge mit farblosem bis schmutzig-gelbem Inhalt. Diese verzweigen sich während ihres Längenwachstums und beendigen ihr Wachstum in Knoten, von welchen jedoch keine neuen Stolonen ausgehen. Rhizoiden gewöhnlich schwach verästelt, anfangs farblos, später braun, von 2,9—7,4 μ , manchmal mit Quer-

wänden. Sporangienträger von 78μ bis 1 mm hoch, gerade oder gebogen bis nickend, braun gefärbt, von $7,2$ — 14μ Dicke, gewöhnlich unverzweigt, aber manchmal sogar sehr stark verästelt, und in diesem Falle zeigen die Träger Anschwellungen. Sie wachsen aus beliebigen Punkten der Ausläufer hervor, gewöhnlich unweit von Rhizoiden, 3—5—8 auf einen Teil der Fäden sich verteilend. Sporangien kugelig, 47 — 109μ breit, grau und hellbraun, reif schwarzblau, nachher schwarzbraun, aufrecht oder nickend. Sporangienwand leicht zerfließend, ohne Basalkragen. Kolumella $22,4$ — $44,2$ hoch \times $25,7$ — $44,2 \mu$, breit aufsitzend, halbkugelig, hoch gewölbt bis ganz kugelig, manchmal nelkenartig angeschwollen, mit glatter, brauner Membran. Wenn die Sporen nach Auflösung der Fruchtwand frei geworden sind, wird die Kolumella wie ein Regenschirm auf dem Sporangienträger umgestülpt, an dem die Ansatzlinie der Außenwand in Form einer Ringleiste angedeutet ist. Sporen in größerer Masse in jungen Sporangien sind schön blauschwarz, vereinzelt hell bläulich-grau, matt, mit glattem, dunkel gefärbtem Rande, länglich, auch rundlich-eckig, von $4,2$ — $7,4 \times 3,7$ — $5,2 \mu$. Es zeigen sich in manchen Kulturen zusammengewachsene Sporen von Amöbengestalt, auch in jeder alten Kultur kann man diese sehen, jedoch nur spärlich. Gemmen spärlich, farblos oder gelblich, mit starker, glatter, farbloser Wand, klein bis groß, 15 — $67,5 \mu$ Durchmesser, unregelmäßig in jeder Form, und zwar von cylindrischem bis ganz kugeligem Aussehen. Zygosporien fehlen. Das ganze Mycelium einzellig, ohne Querwände, diese zeigen sich nur in manchen Rhizoiden.

Vorkommen in Reismehlkuchen in der Chinesischen Hefe aus Cambodja.

Wächst gut auf verschiedenen Substraten, am besten auf Reis-pasta, Nährgelatine, süßer Würze; am schlechtesten auf Milchzucker und Rohrzucker, bei einer Temperatur von 25 — 40°C (Optimum 35 — 40). In verschiedenen Zuckerarten ruft er eine Alkoholgärung hervor, welche sich am besten in Dextroselösung zeigt. In 10 Tagen in gehopfter Würze produziert 0,49 Gewichts-Proz. und in 10-proz. Dextrose in 20 Tagen 1,06 Proz. Alkohol; gleichzeitig auch Säure, deren Natur noch nicht bestimmt ist. Verflüssigt die Gelatine langsam. Auf Stärke wirkt er lockernd und verzuckernd, im Vergleich mit *R. Rouxii* wie 100 : 93.

II. *Mucor Rouxii*.

Von Kuchen, welche aus Saigon stammen, wurde *Mucor Rouxii* als wirksamer Schimmelpilz isoliert. Da aber nicht alle Merkmale mit den Angaben Wehmer's¹⁾ übereinstimmen, habe ich mich mit der Bitte an Herrn Prof. Wehmer gewendet, mir etwas von dieser Species, mit welcher er gearbeitet hat, zu senden. Für die Gefälligkeit, die er mir mit der Sendung seiner *Mucor*-Art erwiesen hat, sage ich hier meinen Dank. Beim Vergleichen dieser zwei Species geht hervor, daß der einzige Unter-

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. VI. p. 353.

schied der war, daß bei der Wehmer'schen Art die Kolumellen mehr rund und mit Kragen versehen waren — bei meiner mehr birnförmig, manchmal ohne Kragen — sonst habe ich keinen Unterschied gefunden; jedoch konnte ich Wehmer's Angaben nicht alle bestätigen.

Nährsubstrate. Alle Forscher, die mit dieser *Mucor*-Art gearbeitet haben, benutzten als festen Nährboden Agarsubstrate als die zweckmäßigsten, weil der Schimmelpilz bei höherer Temperatur am besten gedeiht. Nach diesen Vorschlägen habe ich auch auf verschiedenen Arten von Nähragarböden gezüchtet und vergewisserte mich, daß Agar ein schlechtes Nährsubstrat war, wie auch Wehmer erwähnt. Es zeigt sich nämlich nur eine kümmerliche Vegetation. Züchtet man in Nährgelatine, so bekommt man ein Mycelium, das sich auf der Oberfläche verbreitet, fast aus lauter Gemmen besteht und nur wenig Sporangien giebt. Ganz anders stellt sich die Sache, wenn man auf einer festen Würzelgelatine oder noch besser mit einer kleinen Spur von Agar in der Petri-Schale eine oberflächliche Aussaat macht und sie nachher bei 25° C hält. Es zeigt sich schon in den ersten 24 Stunden ein bis 5 mm hohes Luftmycelium, welches am nächsten Tage viele Sporangien entwickelt hat. Das Luftmycelium bildet je nach der Impfung eine 1–2 qcm oder noch größer ausgebreitete Insel; weiter wächst das gewöhnliche gemmenbildende Mycel mit spärlichen Sporangien fort. Diese Thatsache zeigt sich deshalb so, weil eben nach 48 Stunden bei 25° C die Gelatineverflüssigung beginnt, und auf solchem Substrat können sich die Fäden nur mit Schwierigkeit emporheben.

Dagegen kam auf angefeuchteter Stärke ein sehr kräftiges Luftmycelium mit reichlichen Sporangien hervor, welches ich auf folgende Weise entdeckte. Eine nach 10 Tagen in Freudenreichschen Fläschchen mit Stärkereispasta gezüchtete Kultur spülte ich mit Wasser ab, so daß alle Wirkungsprodukte entfernt waren. Nachher stellte ich die zurückgebliebene Myceliumdecke mit Stärke in den Thermostaten bei 25° C, um mich zu überzeugen, ob dieser Rest von Stärke weiter angegriffen würde. Nach 3 Tagen kam auf der ganzen Oberfläche ein kräftiges Luftmycelium mit Sporangien zu Tage. Später habe ich dasselbe in verschiedenen Temperaturen wiederholt und bekam immer in diesem Falle ein 5 mm hohes Luftmycelium.

Jedoch konnte ich, wo ich Luftmycel und Sporangienentwicklung bekam — „die Mißbildung, ein Beispiel für Fehlschlagen von Sporangien“ — in keinem Falle konstatieren. Wehmer beschreibt¹⁾ und giebt Abbildungen solchen Fehlschlagens von Sporangien an, welche er am reichlichsten auf Agarsubstraten gesehen hat, indem er meinte, daß hier eine „pathologische Erscheinung“ vorgekommen sei. Um diese interessante Erscheinung zu beurteilen, habe ich Parallelversuche mit beiden *M. Rouxii*-Species durchgeführt. Ich fand, daß solche von Wehmer genannten „Fehlschlagungen von Sporangien“ sich nicht nur auf Agar, sondern auch auf Gelatine-substraten und Reis zeigten, auch in diesem Falle, wo ich so üppige

1) *Mucor Rouxii*, Morphologisches. p. 359.

Sporangienentwicklung bekommen habe. Und wirklich, diese Form von Vegetation zeigte sich am reichlichsten auf Agar, später auch auf 2 Tage alter Gelatine und den 3 Tage alten, oben erwähnten Reispastakulturen; und je älter die Vegetation war, desto mehr zeigten sich solche Phänomene. Auch in Böttcher's feuchter Kammer mit festem Nährboden kann man dasselbe sehen. Jedoch ist dieses Phänomen nichts Spezielles für diese *Mucor*-Art, denn dasselbe zeigte sich auch bei *M. racemosus*. Um das zu beurteilen, habe ich aus verschiedenen Nährböden eine ganze Reihe solcher „fehlschlagender Sporangien“ isoliert und vergewisserte mich durch deren Auskeimung in einer Tropfenkultur, daß sie Chlamydo-sporen sind. Daß man es hier weder mit einem Fehlschlagen von Sporangien noch mit einer pathologischen Erscheinung zu thun hat, sondern daß in allen diesen von Wehmer abgebildeten und beschriebenen Fällen gewöhnliche Gemmenbildung vorgekommen ist, ersieht man hieraus. Auf Agar, welcher ein schlechtes Substrat ist, zeigt sich nur kümmerliche Vegetation mit wenigen Sporangien, dagegen viele Gemmen im Luftmycelium. Auf Nährgelatine zeigen sich die Gemmen im Luftmycelium erst vom zweiten Tage an, auf Reis vom dritten; also je schlechter das Substrat und je älter die Kultur, desto reichlicher die Gemmenbildung. Dasselbe kann man, wie gesagt, auch bei anderen *Mucor*-Arten, wie *M. racemosus*, *spinosus*, observieren.

Die flüssigen Nährböden sind schlechtere als die festen, was mit Wehmer übereinstimmt. Ich habe für diese Art dieselben Flüssigkeiten benutzt, wie bei *M. Cambodja*¹⁾, und in allen diesen Fällen bekam ich Gasentbindung, auch in dem Falle, den Wehmer mit negativem Resultate bezeichnete, doch freilich nur eine schwache.

Um die produzierte Alkoholmenge und Acidität zu bestimmen, benutzte ich Dextroselösung und Bierwürze in $\frac{1}{2}$ l-Pasteur-Kolben²⁾.

Die Gasentbindung zeigte sich in Würze stärker als in Dextrose, jedoch auch im letzteren Falle wurden große Gasblasen entbunden. Die Würzekultur wurde bei einer Temperatur von 40° C durch 10 Tage, Dextroskultur durch 20 Tage bei einer Temperatur von 35° C gehalten, und das Resultat der Bestimmung zeigt sich folgendermaßen:

Substrat	Alkohol Gewichts-Proz.	Säure in 100 ccm Flüssigkeit
Gehopfte Bierwürze	0,98	14 ccm $\frac{1}{10}^n$ NaOH
Dextrose	0,45	16,7 „ $\frac{1}{10}^n$ „

Aus der Untersuchung geht hervor, daß man in Dextrose während 2mal so langer Zeit kaum die Hälfte der in Würze produzierten Alkoholmenge bekommen hat, und daß trotzdem die Säuremenge größer war.

1) Siehe oben.

2) Dieselben Flüssigkeiten, welche ich bei *M. Cambodja* benutzt habe.

Was die Natur der Säure anbelangt, so wurde auf Ameisen-Essig-, Oxal- und Milchsäure untersucht. Calmette's Angabe konnte ich nicht bestätigen, da in der Dextroselösung die 3 ersten Säuren negative Resultate zeigten, nur Milchsäure konnte man durch Krystallreaktion nachweisen, obwohl in geringer Menge, was Eijkman's Ansichten bestätigen.

Von Gelatineverflüssigung und Verzuckerung der Stärke habe ich bei M. Cambodja gesprochen, hier wollte ich nur noch erwähnen, daß, übereinstimmend mit Calmette's Beobachtung, man in kleineren Dimensionen in Stärkepastakulturen niemals mit Fehling'scher Lösung Zucker nachweisen kann, dagegen zeigte sich eine Alkoholreaktion. Also in diesem Falle wurde die Stärke in Zucker und dieser wieder sofort in Alkohol umgebildet.

Endlich erlaube ich mir, auch an dieser Stelle dem Herrn Direktor A. Jörgensen und dem Herrn Laboratoriumsvorsteher J. Chr. Holm meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen für Rat und That, mit welcher sie mich nicht nur bei dieser Arbeit, sondern auch bei allen anderen Forschungen, die ich in diesem Laboratorium vorgenommen habe, unterstützt haben.

Kopenhagen, 16. Dezember 1900.

Tafelerklärung.

Tafel I.

Fig. 1. Chinesische Hefe aus Saigon.

Fig. 2. Chinesische Hefe aus Cambodja.

Fig. 3—7. Zeigen eine verschiedene Menge, Gestalt und Gruppierung der Sporangienträger, gleichzeitig verschiedene Arten von Rizoiden.

Fig. 4. Verteilung der Sporangienträger auf längeren Teilen der Fäden und Verzweigung der Stolonen bei „a“.

Fig. 5. Rhizoiden mit Querwänden, welche bei anderen fehlen.

Tafel II.

Fig. 8—12. Verzweigung der Sporangienträger.

Fig. 8—9. Ein angeschwollener Träger hebt sich von den Fäden empor und verästelt sich nachher in Fig. 8 auf 2, in Fig. 9 auf 5 Sporangienträger.

Fig. 10—11. Verzweigung der Träger auf gleiche und ungleiche Stüellänge.

Fig. 12. Eine Verzweigung unweit der Kolumella.

Fig. 13. Eine anormale, nelkenartige Anschwellung der Kolumella.

Fig. 14. Verschiedene Gestalt der Kolumella.

Fig. 15. Hutpilzartige Umstülpung der Kolumella nach Freiwerden von Sporen.

Fig. 16. Sporen.

Fig. 17. Eine Zusammenwachsung von Sporen.

Fig. 18. Verschiedene Gemmen.

Nachdruck verboten.

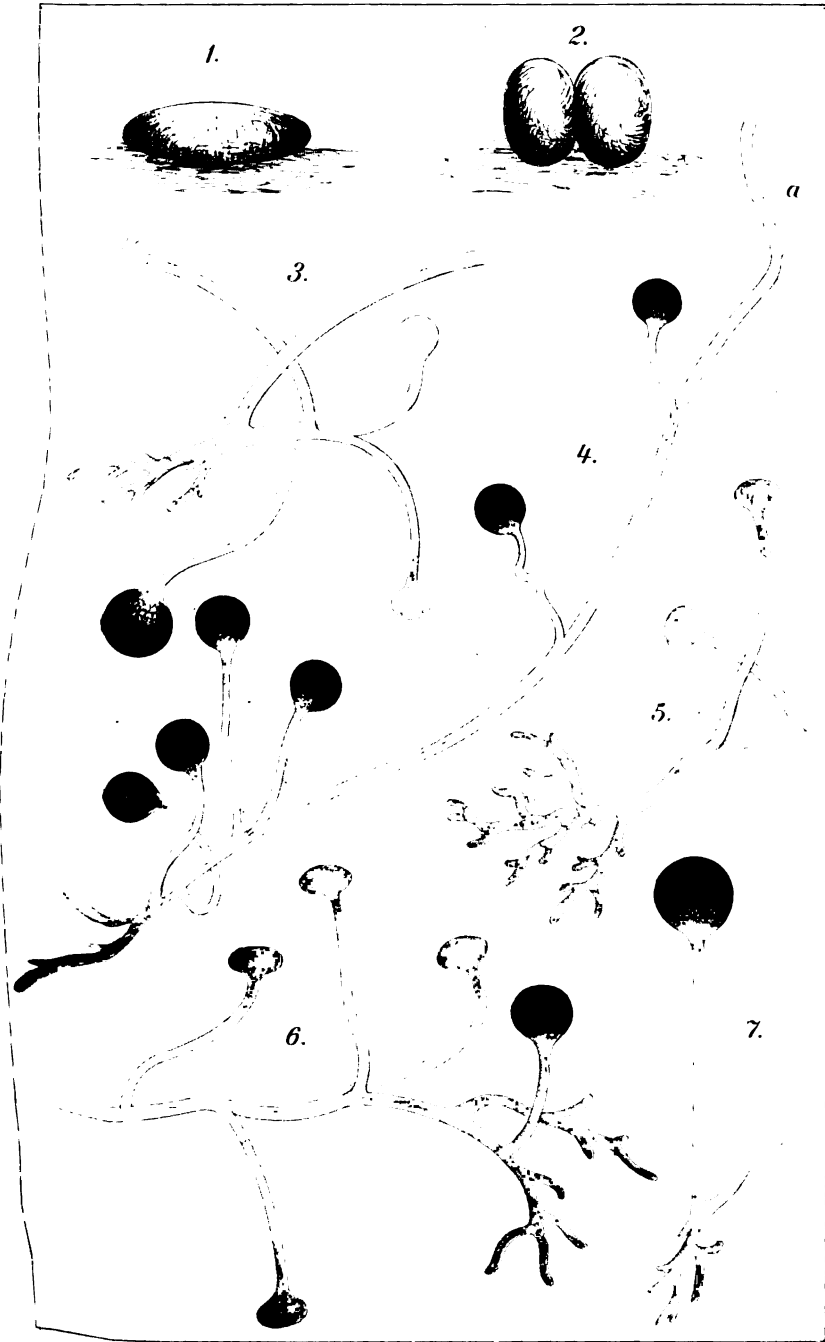
Beitrag zur Kenntnis der Baumflüsse und einiger ihrer Bewohner.

Von Dr. **Wilhelm Holtz** in Freiburg i. Br.

Mit 2 Tafeln und 6 Abbildungen.

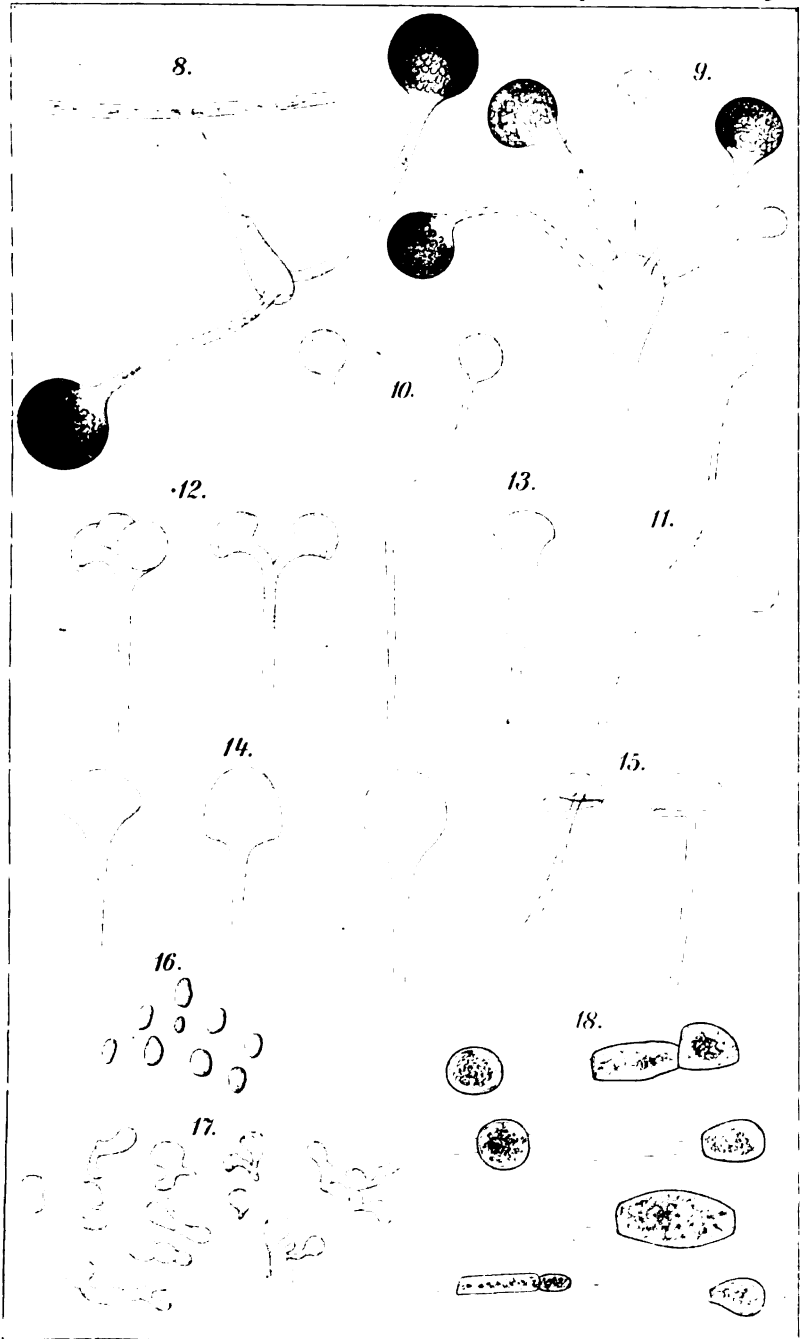
(Schluß.)

Die zahlreichen beobachteten Fälle, in denen die Entstehung der Gonidien innerhalb der Mycelfäden auf die vorerwähnte Weise



Verf. von **Gustav Fischer** in Gens

Lith. v. Meuser, Straß



Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Lith. Neuberger.

unzweifelhaft war, berechtigen uns wohl, die letztere für die Gesamtheit der Fälle anzunehmen, also auch da, wo diese Gebilde bereits am Ende ihrer Entwicklung standen und keine Anhaltspunkte bezüglich ihrer Entstehungsweise mehr gegeben waren. Ludwig hat offenbar diese Erscheinungen nicht in ihrer Entwicklung verfolgt und ist es unter solchen Umständen unbegreiflich, wie er zu seiner oben citierten Erklärung kommen konnte.

Es erhebt sich nun die Frage nach dem Charakter und der Bedeutung der eben beschriebenen Bildungen. Zweifellos dürfte es sich hier um ähnliche Vorgänge handeln, wie sie unter dem Namen Durchwachsungserscheinungen schon lange bekannt und nicht nur an den Mycelien der verschiedensten Pilze, sondern auch bei Algen, Moosen und Phanerogamen vielfach beobachtet und beschrieben worden sind. Eine übersichtliche Zusammenstellung des bis dahin auf diesem Gebiete Bekannten finden wir bei P. Lindner in Verbindung einer Reihe neuer Beobachtungen, die wegen ihrer Bedeutung hier nicht übergangen werden dürfen. Lindner hat die Durchwachsungen, vor allem an dem Mycel von *Epicoccum purpurascens*, einem Schimmelpilze, studiert. Auch hier zeigte das Phänomen die mannigfachsten Modifikationen. Die durchwachsenen Hyphenzellen waren teils völlig inhaltsleer, teils schienen sie zum mindesten in den ersten Stadien der Durchwachsung ihren plasmatischen Inhalt noch besitzen zu haben, wenigstens konnte man dies aus der besonders üppigen Entwicklung der durchgewachsenen Zellen schließen (die offenbar auf Kosten des vorgefundenen Inhaltes stattgefunden), teils zeichneten sich die durchwachsenen Zellen durch ziemlich reichlichen Inhalt aus. Die Durchwachsungsschläuche selbst entstanden entweder als partielle Ausstülpungen einer Querwand oder es wuchs die ganze Scheidewand zu einem Schlauche aus. Dieser konnte die Zellen teilweise oder ganz durchwachsen, er konnte in letzterem Falle mit einer gegenüberliegenden lebenskräftigen Zelle sich vereinigen, sich durch Querwandbildung in eine Menge von Gemmen teilen oder schließlich die Seitenwand der durchwachsenen Zelle durchbohren, um sich als selbständige Hyphe weiter zu entwickeln. Alle diese Modifikationen werden von Lindner durch interessante Beispiele an der Hand von Abbildungen erläutert.

Die Durchwachsungen waren an jungem Mycel sehr selten, und bildete in diesen Fällen gewöhnlich nur die durch zu großen Turgor zum Platzen gekommene Zelle die Ursache der Durchwachsung. Mit zunehmendem Alter und mit dem Beginn der Gemmenbildung wurden aber die Durchwachsungen häufiger. Die Gemmenbildung gab insofern zu den Durchwachsungen Veranlassung, als, wie schon Zopf bei *Chaetonium Kunzeanum* hervorhebt, die Gemmen bereits auskeimen, so lange sie noch im Mycelverbände liegen. Für andere Fälle war indessen eine Erklärung nicht so leicht zu geben, einmal, weil die ausgewachsenen Zellen nicht in so ausgeprägter Weise den Typus der Gemmen zeigten, das andere Mal, weil die durchwachsenen Zellen noch reichlichen protoplasmatischen Inhalt führten und noch eine völlig unverletzte

Membran besaßen. Auch bei *Botrytis cinerea*, sagt Lindner, tritt jene verschiedene Verteilung des Plasmas auf (nämlich an altem Mycel), wonach einzelne Zellen reichlich Inhaltsstoffe aufspeichern, während andere gänzlich entleert werden. Das Auftreten der Durchwachsungen ist damit eng verknüpft, indem es fast nur protoplasmareiche Zellen sind, die innerhalb des alten Mycelfadens auskeimen.

In vorstehender Thatsache liegt für Lindner stets die Veranlassung zu den Durchwachsungen. Schließlich widmet er der Bedeutung dieser letzteren noch einige Worte. Dieselbe könne keine große sein, dies gehe schon aus ihrem relativ seltenen Auftreten hervor. Indessen sei in manchen Fällen ein direkter Vorteil für die Pflanze nicht zu verkennen, indem durch sie abgestorbene Teile der Vegetation verhältnismäßig rasch überbrückt und so die Kommunikation zwischen den noch lebenskräftigen Zellen wieder hergestellt wird. Vielleicht möchten die Durchwachsungen manchmal auch zur Festigung beitragen.

Bei Vergleichung der von Lindner gemachten Beobachtungen mit den unserigen muß das Uebereinstimmende sofort auffallen. Hier wie dort mehrten sich die Durchwachsungserscheinungen mit dem Alter des untersuchten Mycels, eine Thatsache, die sich nur durch den Umstand erklären läßt, daß bei altem Mycel eine relativ viel größere Anzahl von Zellen geschwächt bzw. abgestorben ist als bei jungem. Hier wie dort zeigten ferner die durchwachsenen Zellen verschiedene Beschaffenheit bezüglich ihres Inhaltes und stets bedeutend schwächere Konstitution als die benachbarten Zellen, von denen die Durchwachsung nachweisbar ausgegangen; nur in der Ausbildung des Durchwachsungsschlauches herrschte in den von uns beobachteten Fällen lange nicht die große Mannigfaltigkeit, wie sie Lindner wahrnehmen konnte. Der Durchwachsungsschlauch zerfiel nämlich mehr oder weniger rasch in Oïdien, und nur in einem Falle konnte sein Vorhandensein noch in späteren Stadien festgestellt werden (Taf. I, Fig. 7), indessen dürfte auch hier noch der Zerfall eingetreten sein; ebenso gelang es nur einmal, eine veritable Durchbohrung der Querwand durch den aus einer eingelagerten Oïdie ausgekeimten Schlauch zu beobachten. Die Flüchtigkeit der Erscheinung verhinderte es leider, das Bild durch Zeichnung zu fixieren. Was schließlich die lebenskräftigen Zellen anlangt, von denen die Durchwachsung ausging, so konnten wir feststellen, daß sie fast immer gemmen- oder gonidienartig entwickelt waren, zu erkennen an ihrer Gestalt, ihrem reichlichen Fetttropfen führenden Inhalte und der verdickten Membran. Demnach dürfte es sich in der überwiegenden Mehrzahl der von uns beobachteten Fälle um das Eintreten der erstmals von Zopf geltend gemachten Erscheinung handeln, daß noch im Hyphenverbände liegende Gonidien in die geschwächten oder abgestorbenen angrenzenden Hyphenzellen auskeimen. Eine andere Bedeutung wird diesen Gebilden wohl kaum beigemessen werden können als die von Erscheinungen rein vorübergehenden zufälligen Charakters¹⁾.

1) Als ich meine Untersuchungen eben zum Abschluß gebracht (Frühjahr 1899), erschien in dieser Zeitschrift. 1899. Heft 11, eine kurze Mitteilung von

c) Physiologische Eigenschaften, Kulturmerkmale.

Der einschlägigen Versuche Hansen's und Ludwig's wurde bereits früher zum Teil gedacht. Die Mitteilungen der erwähnten Forscher brachten so ziemlich das Wichtigste über die hier aufgeworfenen Fragen. Unsere Untersuchungen, die in Folgendem zusammengestellt, sollen nur zur Ergänzung des bereits Vorhandenen beitragen, hierbei ergab sich natürlich des öfteren die Notwendigkeit, auf die Untersuchungen Hansen's bzw. Ludwig's kurz hinzuweisen.

Die makroskopisch sich zeigenden Wachstumseigentümlichkeiten haben in unserem Falle, wie bei den Pilzen überhaupt, im ganzen genommen ziemlich untergeordnete Bedeutung, sie interessieren nur insofern, als sie für die Bestimmung, Unterscheidung von anderen ähnlichen Organismen von Wert sind oder eventuell Rückschlüsse auf die Entwicklung gestatten. Im übrigen führen wir sie nur der Vollständigkeit halber an.

Auf festen Nährböden (Kartoffel, Gelatine etc.) bildet sich von der Impfstelle ausgehend ein hellgraugelber teigiger Belag, dessen Oberfläche besonders bei Kartoffelkulturen in späteren Stadien wie mit einem weißen Schimmel besprengt erscheint. Die Gelatinestichkulturen sind schon von Ludwig und Hansen eingehend beschrieben und wird als besonders auffällig das Auftreten strahlenförmiger Ausläufer, die vom Belag, sowie vom Stichkanal aus in die Gelatine hineingehen, bezeichnet.

In flüssigen Nährmedien führt das Wachstum zur Bildung

F. Wileminsky über Sporenbildung bei *Dematium pullulans* de Bary, einem dem *Oidium Ludwigii* Hansen wahrscheinlich ziemlich nahestehenden Pilze, in der ebenfalls die Bildung von Gonidien (Sporen) innerhalb der Mycelfäden beschrieben, bezüglich ihrer Entstehung eine ähnliche Auffassung zu Grunde gelegt wird, wie sie Ludwig gelegentlich der Beschreibung seines *Endomyces-Oidiums* entwickelte. Besieht man die dem Texte beigefügten Abbildungen, so muß sich sofort die Vermutung der Identität der hier beobachteten Erscheinungen mit den bei *Oidium Ludwigii* konstatierten aufdrängen, zumal auch bei *Dematium pullulans* ein häufigeres Auftreten der erwähnten Bildungen an altem (bzw. durch zeitweiliges Austrocknenlassen mißhandeltem) Mycel wahrgenommen wurde. Es war wohl der Mühe wert, hier eine Uebereinstimmung eventuell zu konstatieren, und ich beschloß deshalb auch, *Dematium pullulans* auf die bewußten Erscheinungen hin zu untersuchen, sobald mir Material zur Verfügung stand. Da erfuhr ich von Herrn E. Ch. Hansen, dem ich die Resultate meiner Untersuchungen mitgeteilt hatte, daß seine Assistenten, die Herren Alb. Klöcker und H. Schiönning, Untersuchungen über *Dematium pullulans* und *Oidium lactis* in der erwähnten Richtung eben zum Abschluß gebracht und über die Resultate derselben in völliger Uebereinstimmung mit den von mir bei *Oidium Ludwigii* erzielten Ergebnissen eine vorläufige Mitteilung in dieser Zeitschrift veröffentlichten, die sich bereits im Drucke befände. So war ich gezwungen, von den geplanten Untersuchungen über *Dematium pullulans* Abstand zu nehmen. Wenn ich meine Resultate über *Oidium Ludwigii* dennoch der Öffentlichkeit übergebe, so hat dies seinen Grund teils in dem Umstande, daß dieser Pilz speziell in der angeführten Beziehung noch nicht untersucht war, teils in der meinerseits gehegten Ueberzeugung, auf dem Gebiete dieser interessanten und wechselfältigen Erscheinungen doch manches Neue bieten zu können; es soll indessen hier nicht versäumt werden, die Priorität der richtigen Würdigung des Charakters und der Bedeutung der in Vorstehendem behandelten Phänomene ausdrücklich obengenannten Herren zuzuerkennen.

eines weißlichen bis gelben Bodensatzes, während die Oberfläche der Flüssigkeit sich mit einer mehr oder weniger zusammenhängenden Haut überzieht. Die Entstehung dieser letzteren aus kleinen Inselchen wurde erstmals von Hansen an Würzekulturen beobachtet; hier kommt es zur Entwicklung ziemlich mächtiger Kahmhäute mit blasigen Anschwellungen, die aber in vorgerückten Stadien bis auf jene dünnen grauen Inseln verschwinden. Der Bodensatz besteht dann zum Teil aus feinflockigem, zum Teil aus vielfach zusammenhängenden flzigen Massen.

Das Wachstumsoptimum liegt nach Hansen zwischen 25 und 30°, wenigstens vollzieht sich die Entwicklung bei diesen Temperaturen bedeutend rascher als bei gewöhnlicher Zimmertemperatur.

In Nährsubstraten, die gewisse Kohlehydrate enthalten, findet auf Kosten dieser letzteren eine oft lebhaft alkoholische Gärung statt. So besonders in Würze, in Lösungen von Hefeasche oder von mineralischen Nährsalzen in destilliertem Wasser, die Dextrose enthalten, desgleichen in Bouillon und endlich in Birkensaft, nach Ludwig auch in den verschiedensten Fruchtsäften. In Würze verläuft die Gärung ziemlich stürmisch, man sieht hier vom Boden und anderen Stellen des Kulturgefäßes in bestimmten Stadien der Entwicklung reichlich Gasblasen aufsteigen, und zeigt alsdann die Kahmhaut die üppigste Ausbildung. Im Gärkölbchen sammeln sich bei Anwendung von Bouillon oder Würze als Nährflüssigkeit beträchtliche Gasmengen an. Letztere bestanden, wie die Untersuchung ergab, in beiden Fällen aus fast reiner Kohlensäure. In den anderen Flüssigkeiten trat eine deutlich sichtbare Gasentwicklung nicht ein. Dies schließt freilich nicht aus, daß die Bildung von Kohlensäure dennoch vor sich gegangen, dieselbe mußte sogar stattgefunden haben, da in den Kulturflüssigkeiten nach einer gewissen Zeit Alkohol nachzuweisen war. Vermutlich war die Quantität des gebildeten Gases zu gering im Verhältnis zum Wassergehalt der Nährflüssigkeit, was zur vollständigen Absorption führen mußte.

Eine quantitative Bestimmung der gebildeten Kohlensäure wurde in Bierwürze nach der Methode von Meißel vorgenommen.

In 50 ccm Würze waren nach 4 Tagen bei Zimmertemperatur 0,2708 g CO₂ entwickelt worden, was einer Alkoholmenge von 0,2832 g = 0,56 Gew.-Proz. entspräche.

Durch direkte quantitative Bestimmung des in Würze gebildeten Alkohols vermittelt des Ebullioskopes ermittelte Hansen folgende Zahlen:

0,75 Vol.-Proz. nach 11 Tagen	} bei Zimmertemperatur
1,4 " " 22 Monaten	

Wir konnten auf Grund einiger Untersuchungen durch Destillation und Bestimmung des spezifischen Gewichtes des Destillates mit dem Pyknometer feststellen, daß nach 2 Tagen

a) bei Zimmertemperatur 0,52 Gew.-Proz. = 0,66 Vol.-Proz.

b) " 30° 0,63 " = 0,79 "

(Tabelle nach Hehner [bei 15,5°]) gebildet wurden.

In letzteren Zahlen kommt zugleich das energischere Wachstum bei etwas höherer Temperatur zum Ausdruck.

In einer Lösung von 10-proz. Dextrose in Hefewasser bildet der Pilz nach Hansen innerhalb 14 Tagen 3—4 Vol.-Proz. Alkohol.

Wie Hansen erstmals konstatierte, geht in allen diesen Flüssigkeiten eine ziemlich kräftige Aetherbildung nebenher, die sich durch den Geruch sehr bemerkbar macht.

Unterschiede im Verlauf der Gärung ergaben sich in Würze- bzw. Bouillonkulturen, je nachdem die Impfung durch einen Mycelteil oder durch Gonidien geschah, im letzteren Falle konnte der Eintritt der Gärung oft mehr als einen Tag früher wahrgenommen werden als im ersteren.

Die Entwicklung der Oidien, sowie des Mycels in geringen Quantitäten Nährsubstanz (in der feuchten Kammer) unter dem Mikroskop wurde bereits früher beschrieben. Es erübrigt noch, durch mikroskopische Untersuchung das Wachstum in größeren Mengen des Nährmaterials zu verfolgen. Das Mycel erleidet meist eine durchgehende Zergliederung, wenn es in frische Nährsubstanz gebracht wird (die Ausnahmen hiervon wurden früher besprochen), es schließt sich eine lebhaftere Gonidienentwicklung an, die indessen von Mycelneubildungen begleitet ist, es gilt dies wenigstens für flüssige Nährmedien. Das Wachstum der Kahmhaut auf Würze konnte am besten verfolgt werden, wenn der Pilz in den in der Bakteriologie gebräuchlichen Kulturschalen gezüchtet wurde. Hier entstanden zunächst über der Impfstelle kleine graue Inselchen aus langen Zellformen nach 1—2 Tagen, je nachdem Gonidien oder Mycel zur Impfung verwendet worden waren, hatte sich die ganze Oberfläche der Flüssigkeit mit einer zusammenhängenden Haut überzogen, die an manchen Stellen blasenartige Faltung zeigte. Sie bestand auch in diesem Stadium aus lauter langen Zellen mit deutlich sichtbaren Vakuolen (Fig. 5). Dazwischen konnte man Mycelföckchen bemerken, die namentlich an den blasig angeschwollenen Stellen der Kahmhaut oft zu bedeutender Größe herangewachsen waren. Welche Ursachen zur Bildung so umfangreicher Mycelien führen, entzieht sich völlig der Beobachtung. Nach einem weiteren halben Tage haben die langen Gonidien sich in der bekannten Weise durch Scheidewände geteilt und noch einen Tag später besteht die ganze Kahmhaut fast nur noch aus kurz ovalen bis rektangulären Formen.

Wurden der Würze 50 Proz. destilliertes Wasser zugesetzt, so zeigte sich in der Kahmhautbildung kein wesentlicher Unterschied, ihre Entstehung verschob sich um 1—2 Tage, wenn die Würze mit 80 Proz. destilliertem Wasser verdünnt war. Bei der Verdünnung mit 95 Proz. Wasser entwickelte sich überhaupt keine Kahmhaut mehr, sondern die ganze Flüssigkeit enthielt nach einem Tage fast nur Mycelföckchen in reichlicher Menge, die nach 3 Tagen größtenteils in Gonidien zerfallen waren. Im Reagenzglas war der Verlauf des Wachstums ein ganz analoger. In vorgerückten Stadien hatten sich in der oberen Schicht des Bodensatzes dichte filzige

Massen angesammelt, die aus umfangreichen Mycelien bestanden, während die gelbliche untere Schicht des Bodensatzes fast nur Gonidien enthielt; viele der letzteren zeigten starke Membranverdickung und Oeltropfen führenden Inhalt; sie fanden sich auch in den Ueberresten der Kahlhaut, die als matte, graue Inseln auf der Oberfläche der Flüssigkeit schwammen, vor. Die Keimfähigkeit dieser Dauerformen erhielt sich ziemlich lange. Von einer großen Zahl solcher Gonidien, die aus einer über ein halbes Jahr alten Würzekultur stammten und in einen frischen Tropfen Nährflüssigkeit ausgesät waren, keimten fast sämtliche aus.

Entsprechend dem Wachstum in Würze verläuft auch die Entwicklung in einer Lösung von Dextrose in Bouillon. Hier kommt es indessen nicht zu einer so ausgeprägten Kahlhautentwicklung, sondern nur zur Bildung eines dünnen gelblich-weißen bis grauen Ueberzuges, der oft an den Wänden des Reagenzglases emporwächst. Dauerformen waren hier weniger häufig. In den übrigen zur Verwendung gelangten Nährflüssigkeiten war die Entwicklung (offenbar infolge des geringeren Nährstoffgehaltes) viel weniger üppig. Eine eigentliche Kahlhaut kam nicht zum Vorschein, sondern nur kleine, aus Gonidien bestehende Inselchen oder Räschen. Auch trat die Mycelbildung zu Gunsten der Gonidienentwicklung bedeutend zurück. Ueberall setzte sich ein weißes bis gelbliches, flockiges Sediment ab, das zum größten Teil aus Gonidien, in alten Kulturen vorzugsweise aus Dauerformen bestand.

Auf festen Nährböden zeigten sich im allgemeinen keine großen Differenzen im Wachstum. Der teigige graugelbe Belag, der schon nach einem Tage an der geimpften Stelle sichtbar ward und von hier rasch im Umkreis sich ausbreitete, bestand aus Gonidien der verschiedensten Formen, meist aus langgestreckten Zellen mit zahlreichen Vakuolen, etliche unter ihnen waren mehrfach verzweigt und schienen zu mycelähnlichen Gebilden heranzuwachsen. Besonders Kartoffelkulturen besitzen die Eigentümlichkeit, daß nach kurzer Zeit kleine schimmelartige weiße Flöckchen auf dem Belag sichtbar werden. Sie bestehen aus Konglomeraten kurzovaler Gonidien mit körnigem Inhalt und sind wahrscheinlich die Zerfallprodukte kurzer, aus dem Belag in die Luft gewachsener Hyphenzweige. Auch im Belage selbst treten alsbald solche Gonidien auf, nach Verlauf einiger Wochen bilden sie bei weitem die Mehrheit der vorhandenen Zellformen und stehen, wie schon früher erwähnt, oft reihenweise an den Enden abgestorbener verästelter Hyphen (Taf. II, Fig. 2, 3). In alten Kulturen hatten sich die Membranen der Oidien meist etwas verdickt.

Oeltropfenbildungen fanden sich indessen nur äußerst spärlich vor. Gonidien, die aus über 3 Monate alten, stark eingetrockneten Kartoffelkulturen stammten, waren gewöhnlich etwas geschrumpft und konnten nicht mehr zur Keimung gebracht werden.

Würze- wie Fleischpeptonnährgelatine, Strich- und Stichkulturen zeigten ähnliche Beschaffenheit des Belages. Von letzteren, sowie vom Stichtkanal aus findet hier, wie Ludwig und Hansen

übereinstimmend beobachteten, ein strahliges Wachstum in die Gelatine hinein statt. Die Strahlen bestehen in der Regel aus Oïdien in kettenförmiger Anordnung, aber auch, namentlich zu Anfang, aus Hyphen. Oft wachsen an der Wandung des Reagenzglases vom Belage aus strahlenförmige, wurzelartig gewundene und verzweigte weißliche Stränge hinauf, die aus dicht aneinander gereihten runden oder elliptischen Gonidien bestehen, die Oeltropfen enthalten und meist stark verdickte Membran besitzen. Dieselben behielten in den untersuchten Fällen ihre Keimfähigkeit fast 3 Monate lang, indessen war das Keimungsprozent dann ziemlich niedrig. Allem nach scheint die Austrocknung, die auf festen Nährböden verhältnismäßig rasch vor sich geht, die Keimkraft in hohem Grade zu beeinträchtigen. Die in sehr alten Kulturen nicht selten auftretenden abnormen Wachstumserscheinungen wurden bereits früher besprochen und in ihrer Beziehung zu den normalen charakterisiert. Nach neuen bisher unbekanntem Entwicklungsformen suchten wir vergebens, es ergab sich also in dieser Hinsicht nur eine Bestätigung der Hansen'schen Resultate.

Es wäre müßig, auf Grund der bis heute vorliegenden Untersuchungen die Möglichkeit bezw. Unmöglichkeit des Auffindens anderer Fortpflanzungsformen einer eingehenden Erörterung zu unterziehen, zumal uns eine solche keineswegs über die Thatsache hinweghelfen könnte, daß wir uns in Bezug auf die entwickelungsgeschichtlichen Fragen einer ganzen Reihe von Pilzen, zu denen auch *Oïdium Ludwigii* gehört, zur Zeit noch auf sehr unsicherem Boden befinden.

2. Die Bakterienflora der Baumflüsse.

Den in den Baumflüssen ansässigen Bakterien war bisher noch am wenigsten Beachtung geschenkt worden. Bekannt sind eigentlich heute nur die von Ludwig als Krankheitserreger hingestellten Mikrokokkenarten, nämlich *Leuconostoc Lagerheimii* und *Micrococcus dendroporthos*, deren Beschreibung aber in vieler Hinsicht der Ergänzung bedürftig ist. Ueber die Beobachtung anderer Bakterienarten finden sich nur beiläufige Bemerkungen allgemeiner Art in der Litteratur vor. Vielleicht hatte diese Vernachlässigung zum Teil ihren Grund in der von Ludwig vorgefaßten und zur Basis seiner Untersuchungen erhobenen Anschauung, daß hier jeweils eine ganz bestimmte Art ursächlich thätig sein müsse. *Leuconostoc Lagerheimii* soll nach Ludwig nicht nur Erreger des weißen Eichenschleimes sein, sondern sich, gleich *Endomyces Magnusii*, unter der Rinde zu schaffen machen¹⁾. Der direkte Gegenbeweis bezüglich dieser letzteren Ansicht konnte von uns nicht erbracht werden, weil es unseren Bemühungen nicht gelang, diese Spaltpilzart im Schleim nachzuweisen, jedoch dürfte aus unseren Untersuchungen über die Frage des parasitären Wirkens des *Oïdiums* schon zur Genüge hervorgehen, daß eine derartige Thätigkeit eines Spaltpilzes wie

1) Ludwig's diesbezügliche Bemerkung findet sich in 49. p. 340.

des *Leuconostoc Lagerheimii* wenig Wahrscheinlichkeit für sich hat.

Der genannte *Micrococcus* fand sich, wie gesagt, nirgends vor, statt dessen aber eine Menge der verschiedenartigsten Bakterienformen. In den meisten der untersuchten Baumflüsse konnten 6 und mehr Arten nachgewiesen werden. Etliche derselben traten in verschiedenen Baumflüssen auf oder konnten zu verschiedener Zeit in ein und demselben Baumflusse wiederholt konstatiert werden. Keine Art aber trat in solch hervorragender Weise auf, daß man geneigt wäre, ihr eine besondere Rolle bei den sich abspielenden Vorgängen zuzuschreiben. Die größte Zahl der gefundenen Arten (es waren im ganzen über 170) gehörte der Gruppe der Bakterien im engeren Sinne an, und zwar waren es meist sehr kurze Stäbchenformen, nur wenig länger als breit, welche am verbreitetsten und zahlreichsten sich vorfanden. Kokken waren in relativ sehr geringer Zahl vorhanden. Zur Beurteilung unserer Ergebnisse erweist es sich als notwendig, auf die Ludwig'schen Mitteilungen über *Leuconostoc Lagerheimii* etwas einzugehen. Hiernach soll der weiße Eichenschleim in der Hauptsache aus kugelig bis wurstförmig traubigen Massen bestehen, die beim Zerdrücken in einzelne mehr oder weniger kugelige Hefe- (dem *Saccharomyces conglomeratus*) ähnliche Gallertgebilde zerfallen. Bei Anwendung stärkerer Vergrößerung bemerkte Ludwig in diesen letzteren Kokkenschnüre von oft beträchtlicher Länge, deren Hüllen die erwähnten Gallertbildungen darzustellen schienen. Die ganze Schleimmasse entsprach der Summe der Schleimhüllen dieser Mikrokokkenketten. Als kulturelle Merkmale giebt Ludwig für *Leuconostoc Lagerheimii* folgende an¹⁾: Auf Gelatineplatten entwickeln sich zuerst kleine linsenförmige bis kugelige, fast hyaline Kolonien. Nach 6 Tagen tritt vollständige Verflüssigung der Gelatine ein. Himbeersaft wird in einigen Tagen geleeartig dick.

Wir konnten weder bei der mikroskopischen Untersuchung Anzeichen der oben erwähnten Art, die auf den bakteriellen Ursprung der Schleimmassen hindeuteten, auffinden, noch bei irgend einer der von uns isolierten und reingezüchteten Spaltpilzarten die soeben aufgezählten Kultureigenschaften feststellen. Was diese anbelangt, so zeigten die mikroskopisch meist schwer unterscheidbaren verschiedenen Kokken- bzw. Kurzstäbchenformen oft bedeutende Differenzen, so daß sich eine sehr große Artenzahl ergab. Eine häufig auftretende Eigenschaft war die der Gasbildung. Sie wurde in flüssigen Nährmedien durch Kultur im Gärkölbchen festgestellt, in Gelatine war sie an den glänzenden Spalten kenntlich, die meist, vom Stichkanal ausgehend, in die Masse einrissen. Das gebildete Gas war in der Mehrzahl der Fälle fast reine Kohlensäure, der Quantität nach oft bedeutend größer als bei *Oidium Ludwigii*, so daß auch in Lösungen von Dextrose in Hefewasser, sowie in Birkensaft erhebliche Gasmengen ausge-

1) 4. p. XXVI.

schieden wurden. Angesichts dieser Thatsache erscheint wohl der Einwand gegen die Behauptung, *Oidium Ludwiggii* bezw. *Saccharomyces Ludwiggii* seien allein die Ursachen der Alkoholgärung an Eichen, gerechtfertigt. Uebrigens giebt Ludwig in der schon öfter citirten Abhandlung „über die Genossenschaften der Baumflußorganismen“ (19) die Möglichkeit zu, daß von *Leuconostoc* auch Alkohol gebildet werden könne.

Als wichtigstes Ergebnis unserer Untersuchungen erweist sich die Verschiedenartigkeit der Bakterienflora der Schleimflüsse, von etwa konstant vorkommenden Mikroorganismen, wie dies nach Ludwig *Leuconostoc Lagerheimii* sein soll, ließ sich nicht einmal eine Spur auffinden. Die Identität der von Ludwig und uns beobachteten Schleimflußerscheinungen dünkt uns indessen zweifellos; wenn daher die Schleimerzeugung überhaupt von Spaltpilzen Ausgang nimmt, so scheint es sich nicht um eine einzelne Art, sondern um ganze Gruppen dieser Organismen mit bestimmten physiologischen Eigenschaften zu handeln; bis jetzt fehlen aber exakte Beweise in dieser Richtung.

Ludwig's spätere Ausführungen machen es zum mindesten wahrscheinlich, daß auch er verschiedene Spaltpilzarten im Eichenschleime vor sich gehabt und daß *Leuconostoc* gewissermaßen nur ein Sammelbegriff für eine ganze Reihe von Species ist; er schreibt (19. p. 340, 341) über *Leuconostoc Lagerheimii*:

„Der Pilz bildet mehr oder weniger lange mehrfach hin und her gebogene, in ihrem Verlaufe den Hüllen entsprechende Schnüre oder Kokken oder Diplokokken. Die Gallerthüllen zerfließen leicht besonders beim Transporte des Pilzes und auch im Freien tritt die kapsellose, aus Kurzstäbchen gebildete Form auf.“ „Dem Dimorphismus, meint Ludwig an einer anderen Stelle, geht auch zweifellos eine Erzeugung verschiedener Gärungsprodukte parallel.“ Mit einer solchen dimorphistischen Anschauung, wie sie hier Ludwig an den Tag legt, wird sich heute kaum jemand befreunden wollen, und es muß aus Ludwig's Mitteilungen gefolgert werden, daß es sich in den untersuchten Fällen thatsächlich um das Nebeneinandervorkommen verschiedener Arten handelte.

Ganz analog lagen die Verhältnisse auch bezüglich der übrigen Schleimflüsse. Ueberall eine große Artenzahl, ohne daß es gelang, einer derselben eine hervorragende Rolle nachzuweisen.

Als Gesamtergebnis unserer Untersuchungen und Beobachtungen muß sich eine wesentlich andere Anschauung über die Natur und Bedeutung der hier behandelten Erscheinungen an lebenden Bäumen ergeben, als sie von F. Ludwig erstmals entwickelt ward. Parasitische Pilzkrankheiten, die zu einer Zerstörung des Rindengewebes führen, liegen in den Baumflüssen auf keinen Fall vor, denn es konnte nachgewiesen werden, daß ein Eindringen irgendwelcher Pilzelemente in die lebenden Zellen der Rinde, des Bastes oder Kambiums und eine Abtötung dieser Gewebeteile ebensowenig statthat, als spontane Ausbrüche als Folge einer solchen subcorticalen Pilzwucherung existieren. Daß die von Ludwig als Erreger aufgeführten Pilze lange nicht in solcher

Häufigkeit und Verbreitung sich vorfinden, als dies Ludwig angiebt, wurde schon früher von Hansen gezeigt und geht auch aus unseren Untersuchungen zur Genüge hervor. Die Ludwig'schen Mikroorganismen können demnach nicht allein als Verursacher der in den Ausflüssen vor sich gehenden Umsetzungsprozesse hingestellt werden, und dürfte wohl angesichts dieser Thatsachen die Vermutung Hansen's, daß das Endresultat durch das Zusammenwirken vieler Faktoren zustande kommt, sehr an Wahrscheinlichkeit gewinnen. Die in den Baumflüssen ansässig gewordenen Organismen sind aber nur als harmlose Gäste anzusehen; die sich den ausgetretenen, für den Baum verlorenen Saft zu Nutze machen.

Von genetischen Beziehungen zwischen den verschiedenen Mikroorganismenformen, die sich in dem Schleimflusse der Eiche vorfinden, etwa in der Art, wie es Ludwig annimmt, konnte nichts entdeckt werden, und wir thun wohl nicht Unrecht, wenn wir mit Hansen das *Oidium* nicht als dem Ludwig'schen *Endomyces Magnusii* zugehörig betrachten, sondern als selbständige Form aufstellen. Eine andere Fruktifikationsform als die Gonidienbildung ließ sich nicht auffinden. Bezüglich der Entstehung von Gonidien innerhalb von Hyphenzellen, welche Erscheinung mehrfach für echte endogene Sporenbildung gehalten und als solche eingehend beschrieben wurde, konnten wir durch Verfolgung des Entwicklungsganges dieser Bildungen zeigen, daß sie nichts mit endogener Sporenbildung zu thun haben, sondern einer ganz anderen Kategorie von Erscheinungen, nämlich derjenigen der Durchwachungen, angehören, und infolgedessen ohne morphologische Bedeutung bzw. systematischen Wert sind.

Vorliegende Arbeit wurde zum größten Teil im pharmakognostischen Institute der Universität Freiburg i. Br. ausgeführt; die bakteriologischen Untersuchungen im hygienischen Institute daselbst, sowie im bakteriologischen Institute der technischen Hochschule zu Karlsruhe.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, an dieser Stelle meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. Friedrich Oltmanns in Freiburg, für das Interesse, das er meiner Arbeit entgegenbrachte, sowie für die vielen Ratschläge, die er mir bei der Ausführung derselben erteilte, meinen herzlichsten Dank auszusprechen. Desgleichen sage ich Herrn Professor Dr. Schottelius in Freiburg, den Herren Professoren Dr. L. Klein und W. Migula in Karlsruhe, sowie den Herren Assistenten Dr. Korn und Hassenkamp in Freiburg für die mannigfache Anleitung, die ich von ihrer Hand empfangen, hiermit meinen verbindlichsten Dank.

Litteratur.

- De Bary, Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze. Leipzig 1884.
 Brefeld, O., Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie. 1891. Heft 9.
 Fischer, A., 1. Vorlesungen über Bakterien. Jena 1897.
 — —, 2. Die Bakterienkrankheiten der Pflanzen. Antwort an Dr. Erwin F. Smith. (Centrbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. V. 1899. No. 8. p. 279 ff.)

- Hansen, E. Ch., 1. Ueber die in dem Schleimflusse lebender Bäume beobachteten Mikroorganismen. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1. Abt. Bd. V. 1889. p. 632—640, 663—669, 693—694.)
- , Kritische Untersuchungen über einige von Ludwig und Brefeld beschriebene Oidium- und Hefeformen. (Botan. Ztg. 1892. No. 19. p. 312 ff.)
- Klöcker, Alb. u. Schiöning, H., Ueber Durchwachsung und abnorme Conidienbildung bei *Dematium pullulans* de Bary und anderen Pilzen. (Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. V. 1899. p. 505—507.)
- Krüger, W., Kurze Charakteristik einiger niedriger Organismen aus dem Saftflusse der Laubbäume. (Hedwigia. 1894. Heft 5. p. 241—266.)
- Lindau, G., Die Organismen im Saftflusse der Laubbäume. (Naturwissenschaftl. Wochenschr. Bd. IX. 1894. No. 52. p. 631 ff.)
- Lindner, P., Ueber Durchwachsungen an Pilzmycelien. (Berichte der Deutschen botan. Gesellsch. Bd. V. 1887. p. 153 ff.)
- Ludwig, F., 1. Die Alkoholgärung und der Schleimfluß lebender Bäume, verursacht durch *Endomyces Magnusii* und *Leuconostoc Lagerheimii* n. sp. (Verhandl. d. botan. Vereins d. Provinz Brandenburg. Bd. XXVIII. 1886. p. 4.)
- , 2. Desgl. (Hedwigia. 1886. Heft 5.)
- , 3. Desgl. (Tageblatt der Versamml. deutscher Naturforscher u. Aerzte zu Berlin. 1886. No. 5.)
- , 4. Desgl. (Berichte der Deutschen botan. Gesellschaft. 1886. Heft 2. p. 17—27.)
- , 5. Der braune Schleimfluß, eine neue Krankheit unserer Apfelbäume. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1. Abt. 1888. p. 323—324.)
- , 6. Weiteres über den braunen Schleimfluß. (Ibid. p. 453.)
- , 7. Weiteres über die Alkoholgärung und den Schleimfluß lebender Bäume. (Ibid. Bd. VI. 1889. p. 134—137, 162—167.)
- , 8. Krankheiten der Chausseebäume in Thüringen. (Deutsche botan. Monatschrift. Bd. VII. 1890. No. 9, 10.)
- , 9. Ueber die Verbreiter der Alkoholgärung und des Schleimflusses der Eichen und verwandter Baumkrankheiten. (Ibid. No. 5, 6.)
- , 10. Der Milch- und Rotfluß der Bäume. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1. Abt. Bd. X. 1891. p. 10—13.)
- , 11. Ueber das Vorkommen des Moschuspilzes im Saftflusse der Bäume. (Ibid. p. 214.)
- , 12. Bemerkungen zu Hansen's *Oidium Ludwigii* und v. Tavel's *Endomyces Ludwigii*. (Botan. Ztg. 1892. No. 48. p. 793—794.)
- , 13. Lehrbuch der niederen Kryptogamen. Stuttgart 1892.
- , 14. Ein neuer Pilzfluß der Waldbäume. (Forstlich-naturwissenschaftliche Zeitschr. 1893. Heft 1. p. 1—3.)
- , 15. Schleimfluß und Alkoholgärung der Eichen. Dendropathologische Notizen. (Ibid. 1894. p. 337—339.)
- , 16. Alkoholgärung der Eichen im Jahre 1894. (Ibid. p. 523—524.)
- , 17. Neue Beobachtungen über Pilz- und Gummiflüsse der Bäume. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1. Abt. Bd. XVI. 1894. p. 58—61.)
- , 18. Ueber den Essigfluß an lebenden Bäumen. (Unser Vogtland. Bd. II. Leipzig 1895. Heft 1. p. 225 ff.)
- , 19. Die Genossenschaften der Baumflußorganismen. (Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. II. 1896. p. 337 ff.)
- , 20. Beobachtungen über Schleimflüsse der Bäume im Jahre 1898. (Zeitschrift für Pflanzenkrankh. Bd. IX. 1899. Heft 1. p. 10 ff.)
- v. Tavel, Vergleichende Morphologie der Pilze. Jena 1892.
- v. Tubeuf, Lehrbuch der Pflanzenkrankheiten. Jena 1895.
- Wileminsky, F., Ueber Sporenbildung bei *Dematium pullulans* de Bary. (Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. V. 1899. p. 297.)

Tafelerklärung.

Tafel I.

Oidium Ludwigii Hansen.

Fig. 1. Stück eines Mycelfadens, die einzelnen Zellen mit zahlreichen Kernen, Hämatoxylinfärbung, Zeiß' homog. Imm.

Fig. 2. Hyphenzelle, ungefärbt, mit Oeltropfen führenden Oidien. Zeiß' Obj. E.

Fig. 3. Stück eines Mycelfadens, eine der Zellen enthält Oidien, deren Kerne durch Hämatoxylinfärbung sichtbar gemacht sind. Zeiß' homog. Imm.

Fig. 4. Stück eines Mycelfadens, ungefärbt; die mittlere Oidien enthaltende Zelle ist abgestorben, während die beiderseits angrenzenden noch lebenskräftig sind. Zeiß' Obj. E.

Fig. 5. Ebenso; in die Oidien führende Zelle ist von der links angrenzenden aus eine schlauchförmige Hervorstülpung eingedrungen. Zeiß' Obj. E.

Fig. 6a—f. Stück eines Mycelfadens, die Bildung der eingelagerten Oidien veranschaulichend. Zeiß' Obj. E. (Die Entwicklung schreitet im Sinne der Numerierung fort.)

Fig. 7. Stück eines Mycelfadens, ungefärbt. In die mittlere Zelle ist von der links angrenzenden ausgehend ein langer Hyphenschlauch eingewachsen. Zeiß' Obj. E.

Tafel II.

Oidium Ludwigii Hansen.

Fig. 1. Mycelfäden mit endständigen Gonidienreihen (aus einer 2 Monate alten Würzekultur). Zeiß' Obj. E.

Fig. 2. Stark verästelter Mycelfaden mit endständigen Gonidienreihen (aus einer 4 Wochen alten Kartoffelkultur). Zeiß' Obj. E.

Fig. 3a. Mycelfaden aus 8 Wochen alter Birkensaftkultur. Zeiß' Obj. E.

Fig. 3b. Derselbe Faden nach 48-stündigem Wachstum in mineralischer Nährlösung. Zeiß' Obj. E.

Fig. 4. Einfacher Mycelfaden aus einer halbjährigen Würzekultur. Die Zellen sind entweder abgestorben und enthalten dann zum Teil Oidien oder sie haben sich in Gonidienreihen (Dauerstadien) mit enorm verdickten Zellwänden umgebildet. Zeiß' Obj. E.

Berichtigungen.

- p. 121 Zeile 1 v. u. lies „des“ statt „der“.
 „ 127 „ 21 „ „ sind die Worte „und Apfelbäume“ zu streichen.
 „ 232 „ 21 „ „ lies „Fig. 1c“ statt „2c“.
 „ 278 „ 21 „ „ „ „(19 p. 338)“ statt („27 p. 338)“.

Nachdruck verboten.

Pilzflüsse der Bäume.

Beobachtungen aus den Jahren 1899 und 1900.

Von Prof. Dr. F. Ludwig.

1. Brauner Fluß. Der durch die Pilzgenossenschaft der *T. rula monilioides* verursachte braune Fluß (vgl. die „Genossenschaften der Baumflußorganismen“. Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. II. 1896. No. 10/11. p. 337 ff.) ist auch in den beiden Jahren vielfach an Obstbäumen (Apfelbäumen in Thüringen, der Rhön, im Vogtland), Chausseebäumen, Parkbäumen (Pappeln, Kastanien, Ulmen, Birken) und auch vereinzelt in Wäldern (an Buchen, Weißtannen) aufgetreten, und konnte ich konstatieren, daß mehrfach ganze Alleen im Lauf der Jahre daran zu Grunde gegangen sind, ohne daß man entsprechende Maßnahmen (vgl. Prakt. Blätter für Pflanzenschutz. Jahrg. III. 1900. Heft 1. p. 5. „Zur Bekämpfung der Schleimflüsse“) dagegen ergriffen hätte. Dr. Herm. v. Schrenk vom United States Department of Agriculture (Division of Vegetable Physiology and Pathology, Washington D. C.) schrieb mir 1899: „Aus einem unserer Parks haben wir diesen Sommer ca. 60 Ulmen entfernen müssen, die an dieser Krankheit litten. Ich habe während des vergangenen Sommers diese Erscheinung an Ulmen und Buchen in den nordatlantischen Staaten, in Maine und

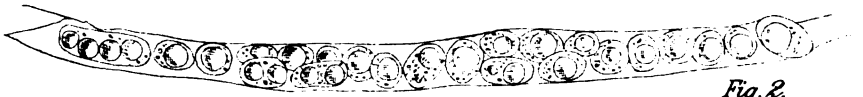


Fig. 2.

Fig. 1.



Fig. 3.

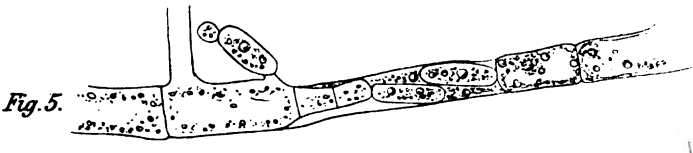


Fig. 5.

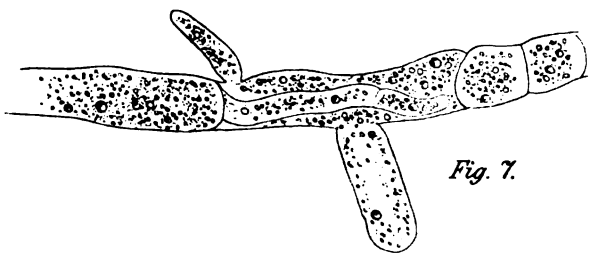


Fig. 7.

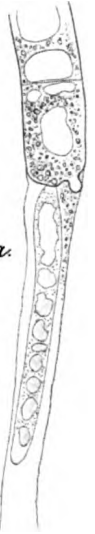


Fig. 6a.

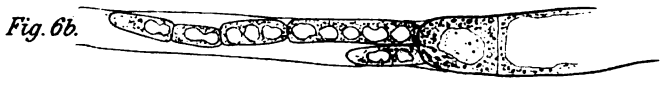


Fig. 6b.



Fig. 6c.



Fig. 4.



Fig. 6d.

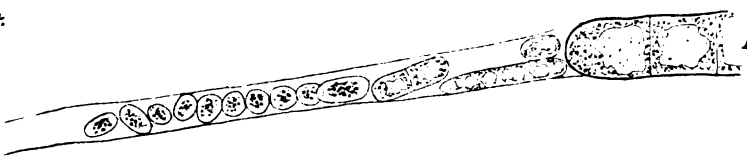


Fig. 6e.



Fig. 6f.

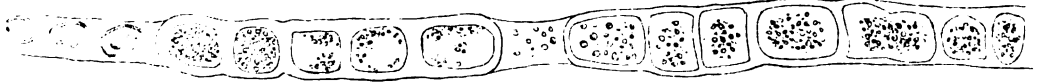


Fig. 4.

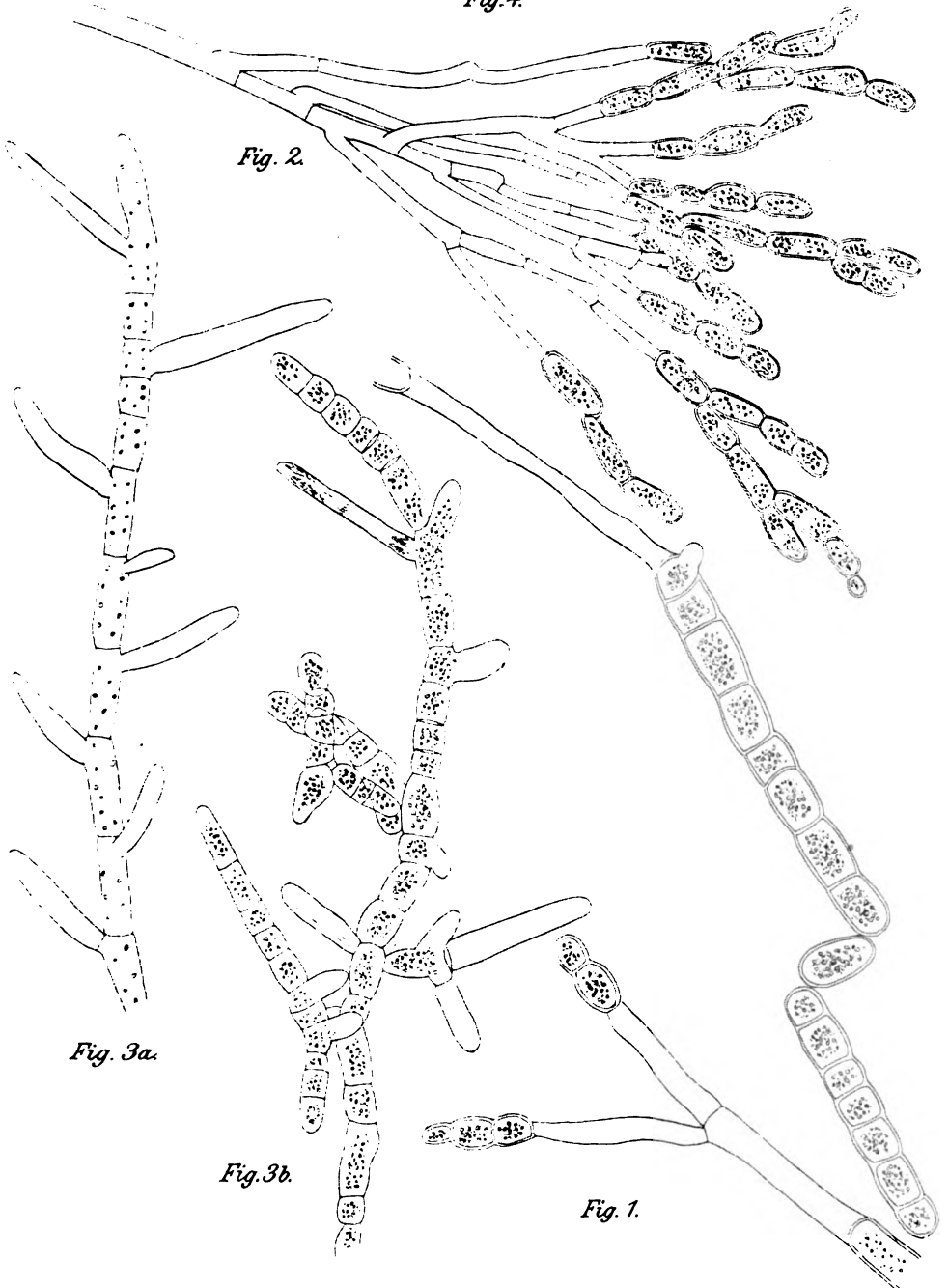


Fig. 2.

Fig. 3a.

Fig. 3b.

Fig. 1.

New Hampshire sehr häufig angetroffen und scheint sich die Krankheit ungeheuer schnell zu verbreiten. Unsere Forstleute, meist ungebildete Männer, wissen sich gar nicht zu helfen und opfern manchen Baum, der wohl noch zu retten gewesen wäre.“ Dr. Nypels (*Maladies de plantes cultivées*. III. Les arbres des promenades urbaines et les causes de leur déperissement. Bruxelles 1899) berichtet über die gleiche Krankheit aus Belgien: „L'écoulement le plus répandu sur les arbres des villes est l'écoulement muqueux brun, décrit et étudié par Ludwig, et qui se développe sur les pommiers, marronniers, ormes, bouleaux, peupliers, chênes, charmes etc. Dans cet écoulement on trouve toujours deux organismes: une bactérie (*Micrococcus dendroporthus*) et un champignon (*Torula monilioides*); secondairement il peut se développer d'autres champignons, notamment *Fusarium*. C'est la bactérie qui semble être l'agent pathogène principal. Spencer Pickering (d'après Masee, *Kew Bulletin* 1897. p. 423) a, parait-il, pu produire les altérations caractéristiques sur les pruniers et pommiers en inoculant des cultures pures de la bactérie isolée d'un écoulement de prunier.“ Auch von anderer Seite wurde mir aus verschiedenen Gegenden der Niederlande und Frankreichs die weite Ausbreitung des braunen Schleimflusses gemeldet.

Von den Organismen, welche sich sekundär in diesem Schleimfluß entwickeln, sind von besonderem Interesse die Cänomyceten (vgl. *Centralbl. für Bakt. etc.* Bd. XVI. 1894. No. 22. p. 907, *Hedwigia*. Bd. XXXIV. 1895), welche in Deutschland namentlich an Roßkastanien, Ulmen etc. dem Fluß oft ein hellbraun-sandiges Aussehen verleihen. Sie scheinen allgemeine Verbreitung zu haben. So fanden sich die von Krüger bei Halle a. S. beobachteten Arten *Prototheca moriformis*, *P. Zopfii* mit *Chlorella protothecoides*, die sich leicht in Nährgelatine weiter züchten lassen, z. B. auch sämtlich in einem *Torula*-Fluß an Roßkastanien bei Greiz. Ich hatte früher in den Schleimflüssen neben anderen in der Umwandlung zu chlorophyllfreien Cänomyceten begriffenen Algen auch Kieselalgen aufgefunden, die die Chlorophyllbildung nahezu eingebüßt hatten (*Navicula borealis* Ehrb., *N. Seminulum* Grun.) und gesagt, daß ich mich nicht wundern würde, wenn eines Tages auch Cänomyceten aufgefunden würden, welche Parallelformen der Bacillariaceen darstellten. Inzwischen hat Provazek (*Oesterr. Bot. Zeitschr.* Bd. L. 1900. No. 3. p. 69—73) solche chlorophyllfreie Bacillariaceen (*Synedra hyalina*, *S. putrida*) beschrieben, die offenbar bei saprophytischer Ernährung zu chlorophyllfreien Arten geworden sind. Derselbe erwähnt auch, daß Ehrenberg eine *Euglena hyalina* (farblose *E. viridis*), Perty apochlorotischen *Haematococcus* und farblose Astasien beschrieben haben.

Anfang Dezember 1900 fand ich am Fuß einer Roßkastanie bei Greiz, an der ich schon seit Jahren den *Torula*-Fluß mit Algen und den erwähnten Cänomyceten fand und wo der Fluß um diese Zeit noch im Gange war, an den Stellen des Bodens, auf welche im Sommer der braune Pilzschleim herabfloß, einen neuen Discomyceten (der offenbar die höhere Fruchtförm eines der im Fluß auftretenden Mycomyceten [*Torula?* *Fusarium?*] ist). Es

waren zierliche große, scharlachrote Fruchtschüsseln, deren Schläuche 8 zierlich gegitterte Sporen enthielten, die daher zur Gattung *Aleuria* gehören. Da die Art von den 3 bekannten deutschen Arten *Aleuria aurantia*, *A. cucullata*, *A. rhenana* wesentlich abwich, übergab ich sie Herrn Medizinalrat Dr. Rehm zur näheren Bestimmung. Derselbe konstatierte in ihr eine neue interessante Species, die er *Aleuria accedens* nennt und die vermutlich häufiger auf dem Boden am Fuß der mit dem braunen Schleimfluß behafteten Bäume im Nachherbst und Vorwinter vorkommt.

2. Weißer Eichenfluß (*Endomyces-Leuconostoc*-Genossenschaft). 1899 traf ich bei Schmalkalden und Greiz die Eichen, zum Teil Exemplare, an denen ich seit 1884 die charakteristischen Gärungserscheinungen beobachtete, in vollem Fluß, 1900 trat der Fluß nur an wenigen Bäumen hervor. Bekanntlich tritt dieser Fluß nur von Juni bis August auf und beginnt mit phänologischer Pünktlichkeit bald nach der ersten Blüte von *Sambucus nigra* und *Secale cereale*. Bei Greiz war der Termin seines Beginnes:

1884	Juni	1890	8. Juni	1896	5. Juni
1885	?	1891	18. "	1897	15. "
1886	17. Juni	1892	22. "	1898	18. "
1887	13. "	1893	22. "	1899	25. "
1888	12. "	1894	1. "	1900	12. "
1889	20. Mai	1895	29. Mai		

Zu den tierischen Gästen gehört seit 1894, zur Zeit, wo die Wiesen gemäht sind, regelmäßig die Honigbiene (vgl. Forstl. naturw. Zeitschr. 1894. Heft 12. p. 524), die ich von 1884 bis 1894 nie an den Gärstellen fand. Es scheint mir daraus zu folgen, daß diese Krankheit erst neuerdings bei uns aufgetreten ist (etwa seit Anfang der 80er Jahre) und daß die Bienen erst allmählich, in Jahren sonstigen Nahrungsmangels, sich der neuen Nahrungs- und Genußquelle zugewendet haben. Auch andere Insekten (*Carabus intricatus* etc.) die ich früher nie an den gärenden Bäumen (Eichen, Birken etc.) traf, habe ich erst in den letzten Jahren unter den sich bezechenden Gästen getroffen. (Ueber die Fauna des weißen Schleimflusses vgl. Deutsche Bot. Monatsschr. Bd. VIII. No 6. Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVI. 1894 etc.)

3. Moschusfluß. Der Moschusfluß, bei welchem die *Fusarium*-Form der *Nectria aquaeductuum* (Rbh. et Rdlkf.) Ludwig die Hauptmasse des weißen oder rötlichen Pilzschleimes bildet (cf. Centralbl. f. Bakt. 1891, 1894, 1896) trat auch 1899 und 1900 an den Linden des Fürstl. Parkes in Greiz und 1900 (bis in den Dezember hinein) an der durch den Friedhof vom Park getrennten Friedhofstraße an Ahornbäumen auf. Bei Wasseruntersuchungen wird dieser Pilz häufiger angetroffen und ging mir aus verschiedenen Gegenden zur Bestimmung zu. Ueber sein regelmäßiges Vorkommen im Plankton von Seen habe ich an anderem Ort kürzlich berichtet.

Original-Referate aus den Sitzungen gelehrter Gesellschaften.*Nachdruck verboten.***Royal Society, London.** Sitzung vom 6. Dez. 1900.**Ueber eine Bakterienkrankheit der Rüben (*Brassica Napus*).**Von **M. C. Potter, M.A., F.L.S.**,

Professor der Botanik an der Universität von Durham College of Science, Newcastle-upon-Tyne.

Mitgeteilt von Sir **M. Foster, Sec. R.S.**

Mit 6 Figuren.

(Schluß.)

Es wird hier passend sein, zu sagen, daß ich, unter Annahme von Migula's Einteilung, das hier zu beschreibende Bacterium *Pseudomonas destructans* benannt habe; die Beschreibung folgt später.

Es ist festgestellt worden, daß *Pseudomonas destructans*, sowohl wenn es in einer Nährlösung als wenn es in einer lebendigen Rübe lebt, ein Enzym absondert, das die Mittellamelle aufzulösen und die Erweichung und Anschwellung der Zellwand verursachen kann.

Als weitere Folge der Einwirkung des Bakteriums hat sich das Protoplasma der Zellen zusammengezogen, gebräunt und von der Zellwand getrennt, als offenbare Wirkung eines von dem Bacterium abgesonderten Toxins. Dieselbe Wirkung zeigte sich in lebendigen Rübenzellen, wenn sie mit dem gekochten, ausgepreßten Saft einer Rübe behandelt wurden, die durch den Einfluß einer Reinkultur des *P. destructans* verfault war. Der ausgepreßte Saft wurde filtriert und zu ungefähr 10 ccm in Probierröhren gefüllt, die dann verstopft und durch unterbrochenes Kochen sterilisiert wurden. Von Stücken steriler, lebendiger Rübe, wurden mit einem durch Kochen sterilisierten Rasiermesser Schnitte abgeschnitten und schnell in den gekochten und wieder abgekühlten Saft eingebracht; zu gleicher Zeit wurden ähnliche Schnitte in Probierröhren mit derselben Menge sterilen Wassers gebracht. Nach 12 Stunden zeigte sich ein sehr merklicher Unterschied zwischen diesen Schnitten. An den in steriles Wasser getauchten hatten die Zellen ihr normales Aussehen, während in den im gekochten, ausgepreßten Saft befindlichen das Protoplasma tot war, sich gebräunt und von der Zellwand abgetrennt hatte. Also sondert *P. destructans* ein Toxin ab, das durch Kochen nicht zerstört wird.

In seinem Aufsatz „Ueber einige Sklerotinen und Sklerotienkrankheiten“ hat de Bary nachgewiesen, daß von den Hyphen der *Peziza sclerotiorum*, wenn sie parasitisch lebt, Oxalsäure abgesondert wird, und daß diese Säure wie ein Toxin wirkt, indem sie das Protoplasma tötet und plasmolysiert. Wehmer hat ge-

funden, daß auch *Aspergillus niger* und *Penicillium glaucum* Oxalsäure bilden, wenn sie in zuckerhaltiger Lösung wachsen.

Da Oxalsäure ein unfehlbares Stoffwechselprodukt der höheren Pflanzen und auch einiger Pilze ist, konnte man mit Recht annehmen, daß sie sich auf ähnliche Weise auch im Leben von Bakterien finden würde. Mit diesem Gedanken untersuchte ich den aus einer verfaulten Rübe ausgepreßten Saft und erhielt bei Zusatz von Chlorcalcium einen Niederschlag, der sich als oxalsaures Calcium auswies. Dann wurden Kulturen unternommen, um Oxalsäure unter den Produkten des *P. destructans* aufzusuchen. Eine Brühe wurde bereitet durch Dämpfung kleiner Stücke aktiv wachsender Rüben, bis sie weich waren, durch einen Ueberschuß von kohlenurem Kalk neutralisiert und filtriert. Dann ließ man sie die Nacht über stehen, worauf ein weiterer Niederschlag von Kalk stattfand. Dann wurde sie wieder filtriert, mit Eiweiß geklärt, gedämpft, filtriert und in 4 Flaschen gefüllt, von welchen jede 150 ccm enthielt, die nochmals sterilisiert wurden. So wurde eine von Oxalsäure freie Flüssigkeit erhalten, die in den Geweben der Rübe vorhanden gewesen sein konnte. Zwei von den Flaschen wurden am 28. August mit *P. destructans* inokuliert. Nach 24 Stunden wurden sie trübe, und nach 4 Tagen fand es sich, daß sie Oxalsäure enthielten, während die Kontrollflaschen nichts von dieser Säure aufwiesen und vollkommen klar blieben.

P. destructans bringt auch in Pasteur's Lösung Oxalsäuregärung hervor. 1 l von Pasteur's Lösung mit Rohrzucker wurde zubereitet und in 4 Flaschen verteilt, von denen jede sorgfältig sterilisiert und eine davon mit *P. destructans* besät wurde. Nach 24 Stunden wurde die vorher vollkommen klare Flüssigkeit der inokulierten Flasche wolkig und nach einer Woche ganz opak; 10 ccm davon zeigten bei Behandlung von Chlorcalcium mit Essigsäure sogleich einen Niederschlag von oxalsaurem Calcium, der bei Erwärmung zunahm. Andere 10 ccm von der ursprünglichen Lösung, die während derselben Zeit steril gehalten worden waren, blieben bei Behandlung mit denselben Reagentien vollkommen klar. Also bringt *P. destructans* in einer Zucker enthaltenden Flüssigkeit oxalsäure Gärung hervor. Man hat auch gefunden, daß während dieses Vorganges Kohlensäure abgegeben wird.

Pasteur's Lösung, worin *P. destructans* 8 Tage lang gewachsen war, gab bei Behandlung mit Alkohol einen weißen, flockigen Niederschlag, der die Cytase enthielt. Aber die Oxalsäure blieb in der Lösung und wurde als oxalsaures Calcium durch Chlorcalcium niedergeschlagen. Dieser Kalkniederschlag wurde mit Mangansuperoxyd gemischt und gab mit Schwefelsäure Kohlensäure ab, ein weiterer Beweis für die Gegenwart von Oxalsäure. Der Niederschlag durch Alkohol bietet ein leichtes Mittel, um das Toxin (Oxalsäure) von der Cytase zu trennen, und dies erklärte es, warum die mit dem wässerigen Extrakt des alkoholischen

Niederschlags behandelten Schnitte keine deutliche Plasmolyse zeigten.

Daß die durch *P. destructans* in Pasteur's Lösung gebildete Oxalsäure als kräftiges Toxin wirkte, zeigte sich sehr deutlich. 6 verschlossene, sterile Probierröhren wurden zubereitet und ungefähr 10 ccm der gärenden Pasteur'schen Lösung hineingegossen. Zu 3 von ihnen (Series 1) wurde hinreichend kohlen-saurer Kalk hinzugefügt, um die Oxalsäure zu neutralisieren. Beide Serien von Röhren wurden dann durch unterbrochenes Sieden sterilisiert, wodurch die Cytase zerstört werden sollte, und in beide wurden nach der Abkühlung frisch verfertigte sterile Rübenschnitte eingebracht, die zubereitet waren, wie es oben beschrieben ist. Dann ließ man die Lösungen bis zum nächsten Morgen einwirken. In der 2. Serie der Röhren zeigten die Schnitte deutlich Zusammenziehung des Protoplasmas, das braun und tot aussah und keine Neigung aufwies, in seinen natürlichen Zustand zurückzukehren, wenn es in reines Wasser eingetaucht wurde. Bei der ersten Serie, die mit kohlen-saurem Kalk behandelt worden war, erschien das Protoplasma ganz normal und glich ganz einem Schnitte, der zu derselben Zeit in steriles Wasser gebracht worden war.

Eine dritte Reihe von Probierröhren wurde mit ungefähr 10 ccm der Lösung gefüllt. Diese wurde nicht gekocht und erhielt keinen kohlen-sauren Kalk. Die eingebrachten Schnitte zeigten vollkommene Auflösung der Zellen; die Zellwände stark geschwollen und das Protoplasma stark zusammengezogen. Dieses Experiment mit der Pasteur'schen Lösung bewies die Entstehung derselben Cytase und zeigte schlagend ihre Wirkung auf die Pflanzenzelle, sowie die toxische Wirkung der Oxalsäure, ja noch mehr, als es bei demselben Experiment mit Rübensaft der Fall war.

Bei Betrachtung der Wirkung der Oxalsäure auf die Zellen muß bemerkt werden, daß das pektinsäure Calcium, das durch Oxalsäure unter Bildung von oxalsäurem Calcium zersetzt wird, an der Zusammensetzung der Mittellamelle reichlichen Anteil hat. Wehmer hat nachgewiesen, daß bei der Kultur des *Aspergillus niger* und des *Penicillium glaucum* in zuckerhaltigen Flüssigkeiten Oxalsäure entsteht, die als Toxin auf diese Pilze wirkt und nach und nach ihre Ueppigkeit vermindert, und daß nach Anhäufung einer gewissen Menge keine weitere Entwicklung möglich ist. Das Wachstum beginnt wieder, sobald die Oxalsäure durch ein Kalksalz neutralisiert ist. Die Reaktion zwischen der von dem *P. destructans* gelieferten Oxalsäure und dem Calciumpektate der Mittellamelle ist ganz analog. Die Oxalsäure wird neutralisiert, das Pektat durch das Oxalat ersetzt und das weitere Wachstum des Bakteriums würde so ermöglicht werden. Die Oxalsäure¹⁾ wirkt dann sowohl als Toxin, indem sie die Zellen tötet,

1) Als der obige Bericht über die Bildung von Oxalsäure durch *P. destructans* schon geschrieben war, veröffentlichte Zopf eine Notiz, worin er die Bildung von Oxalsäure durch *B. xylinum* beschreibt: „Oxalsäurebildung durch Bakterien“. (Berichte d. dtsh. botan. Gesellsch. Februar 1900.)

und kann auch bei der Zerstörung der Mittellamelle und der Trennung der Zellen eine Rolle spielen.

Fig. 5 zeigt eine Zelle, gefüllt mit *P. destructans*; man sieht die Bakterien die Intercellularräume einnehmen und der Mittellamelle anliegen.

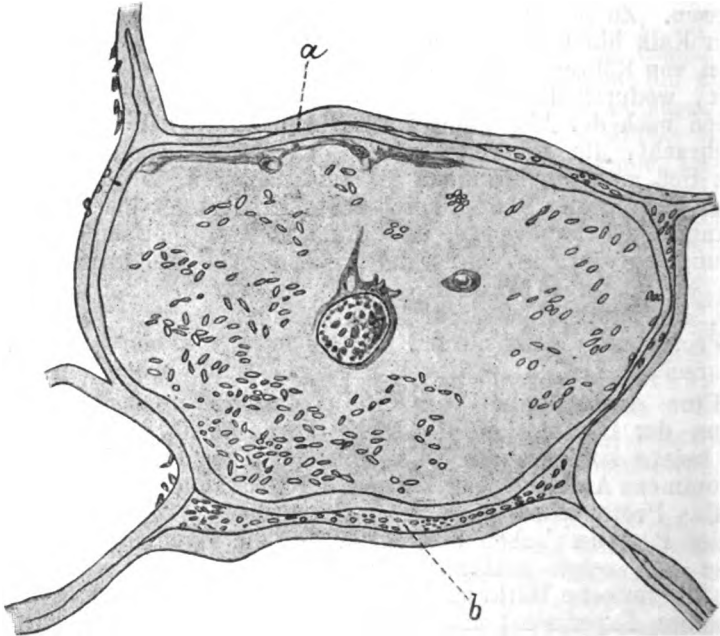


Fig. 5. Zelle aus einer mit Reinkultur von *P. destructans* inokulierten Rübe. Man sieht die Bakterien in der Zelhöhle und auch längs der Mittellamelle und in den Intercellularräumen liegen. Die Zellwand ist stark angeschwollen. Bei *a* beginnt sie eben, sich von der Mittellamelle zu trennen, und bei *b* ist die Trennung stärker ausgeprägt. Der Kern und ein Teil des Protoplasmas sind noch vorhanden. (Gezeichnet mit Abbe's Camera lucida. Zeiß E, Ok. 4.)

Bei verschiedenen parasitischen Pilzen dringen die Hyphen auch in die Dicke der Zellwand ein, und dasselbe Phänomen zeigt sich nun bei einem parasitischen Schizomyceten; vielleicht rührt dies daher, daß die Neutralisierung der Oxalsäure eine Lebensbedingung für ihn ist.

Ihrer Natur nach ähnliche Enzyme, wie das bei *P. destructans* beschriebene, sind von Marshall Ward bei *Botrytis* und von de Bary bei *Sclerotinia* nachgewiesen worden.

Die Wirkung dieses Bakteriums auf lebende Pflanzengewebe ist ganz ähnlich der von gewissen parasitischen Pilzen; in beiden Fällen bringt der eindringende Organismus Oxalsäure hervor, welche als Toxin auf das Protoplasma wirkt und durch Zersetzung des pektinsäuren Kalkes die Auflösung der Zellen befördert. Ferner findet die Sekretion einer Cytase statt, die einen zerstörenden Ein-

fluß auf die Zellwand und die Intercellularsubstanz ausübt. Die Frage nach dem Parasitismus der Bakterien steht so auf demselben Boden, wie die der Pilze, und es findet sich vollständige Homologie zwischen ihnen.

Zuerst fand ich bedeutende Schwierigkeit bei Färbung der Geißeln. Zuerst wurde Loeffler's Methode versucht, aber ohne günstigen Erfolg; doch setzte sie mich in den Stand, an jedem Ende des Stäbchens einen stark gefärbten Fleck zu sehen. Auch van Ermengem's Methode versagte trotz der strengsten Befolgung der Technik, aber als ich die Silberlösung nach und nach verstärkte und zuletzt eine 2-proz. Lösung benutzte, wurde der erwünschte Erfolg erreicht und es fand sich, daß der Bacillus eine polare Geißel besaß (Fig. 6). Es ist zu bemerken, daß ich das Durchziehen des Deckgläschens durch die Flamme unterließ, und dieses dagegen bei 60° C über einem Wasserbade trocknete; letztere Methode ist sicherer und giebt bessere Resultate.



Fig. 6. *Pseudomonas destructans* mit einem einzigen polaren Flagellum. (Swift's $\frac{1}{12}$ Apochromat und Kompensationsokular 12.)

Pseudomonas ist aërobisch. Eine Stichkultur entwickelt sich schnell längs der Bahn des Drahtes und bildet einen Trichter. Der Rand des Trichters erreicht die Seiten der Probierröhre nach ungefähr 48 Stunden und sinkt allmählich bei der Verflüssigung der Gelatine. Doch wird die Gelatine niemals ganz verflüssigt, die Verflüssigung erstreckt sich an den Seiten der Röhre nur etwa $1\frac{1}{2}$ cm weit nach abwärts. Wenn eine Gelatineschicht unmittelbar über den Stich geschüttet und die Röhre in die Wärmekammer gestellt wird, erscheint der Weg des Drahtes deutlich bezeichnet wie vorher, aber die Kolonien hören bald auf sich zu entwickeln, und nach 3 Tagen hört alles Wachstum auf. Man kann die Röhre viele Wochen lang in diesem Zustande erhalten.

Soweit meine Erfahrung reicht, findet die Einwirkung des *Pseudomonas* auf Rüben und Kartoffeln nur bei Gegenwart von Sauerstoff statt. Im Folgenden sieht man typische Beispiele von häufig und immer mit demselben Erfolg wiederholten Experimenten. Eine ungefähr 250 ccm enthaltende Flasche mit einem dicht schließenden Kautschukpfropfen, der für 2 rechtwinkelig gebogene Glasröhren durchbohrt war, wurde auf folgende Weise sterilisiert: Die Röhren wurden an beiden Enden mit Watte verstopft und die Pfröpfe gut in die Röhren hineingeschoben, auch die Flasche wurde mit Watte verstopft und zugleich mit den Glasröhren durch trockene Hitze sterilisiert. Unterdessen wurde der Kautschukpfropf eine halbe Stunde lang in 10-proz. Sublimatlösung gekocht. Die abgekühlte Flasche wurde dann ungefähr zur Hälfte mit sterilen Stücken von lebender Rübe angefüllt, die wie oben erwähnt, zubereitet waren, und mit Reinkultur von *P. destructans* inokuliert. Der Kautschukpfropf wurde mit sterilem Wasser gewaschen, schnell auf die Flasche gesetzt, die Glasröhren durch

die Löcher geschoben und die Verbindungen mit geschmolzenem Wachs verschlossen. Die längere Röhre (*A*) reichte bis zum Boden der Flasche, die kürzere (*B*) nur wenig unter den Pfropf hinab. Schon nach 12 Stunden konnte man die Wirkung des Bakteriums bemerken, die Stücke änderten ihre Farbe und zeigten an den Ecken Zeichen von Zerfall. Während der Gärung wurde eine bedeutende Menge von Gas entwickelt, das man aus *B* in einer pneumatischen Wanne sammeln konnte; die sich am Boden der Flasche sammelnde Flüssigkeit stieg in *A* auf und lieferte so den nötigen Druck. Wenn die längere Röhre *A* offen blieb, und eine hinreichende Menge von Oxygen sich in der Flasche verbreiten konnte, wurde fortwährend Kohlensäure abgegeben, und im Verlaufe von ungefähr einer Woche war der Inhalt gänzlich verfault und in einen wässerigen Brei verwandelt. Wenn aber in einer ganz ähnlichen, zur Kontrolle benutzten Flasche die längere Röhre nach kurzer Zeit verschlossen und die kürzere mit einer Röhre zur Aufnahme etwa ausströmenden Gases verbunden wurde, wodurch der Zufluß von Oxygen verhindert wurde, hörte die Entwicklung von CO^2 bald auf und, soviel man wahrnehmen konnte, auch die Wirkung des *P. destructans*.

Um hierin noch weiter zu gehen und mit größerer Sicherheit festzustellen, ob die Wirkung von *Pseudomonas* ohne Sauerstoff vor sich gehen könne, wurde eine andere Reihe von Flaschen zurecht gemacht mit den beiden beschriebenen Röhren, auf dieselbe Weise sterilisiert und die vorbereiteten Rübenstücke wurden eingebracht und inokuliert, wie vorher. Die kürzere Röhre wurde jetzt mit einer zweiten Flasche verbunden, die eine alkalische Lösung von Pyrogallussäure enthielt, und die andere mit einer gebogenen, Quecksilber enthaltenden Röhre, um als Manometer zu wirken und jeden Zutritt von Sauerstoff aus der Luft zu verhindern. Zuerst zeigte sich eine Ausdehnung der Luft in den Flaschen, das Quecksilber stieg in dem distalen Gliede. Es fuhr fort, zu steigen, Blasen von Kohlensäure traten gelegentlich um die Biegung aus. Diese Wirkung hörte jedoch nach 2 Tagen auf, weil die nötige Menge von Oxygen in den Flaschen und in den Intercellularräumen erschöpft war. Nach einem langen Zwischenraum (4 Monate, vom 6. Juni bis 5. Oktober) wurden die Flaschen auseinandergenommen und die Rübenstücken untersucht. Sie hatten noch ihre ursprüngliche Gestalt und waren nur oberflächlich verfault; sie hatten etwas von ihrer Starrheit verloren, boten aber bedeutenden Widerstand gegen Streckung. Die mikroskopische Untersuchung zeigte, daß alle Zellen tot waren, aber nur eine oder zwei Schichten von oberflächlichen Zellen zeigten Einwirkung der Bakterien. Die Zellwände an der Außenseite des Stückes waren geschwollen und gestreift und ließen sich längs der Mittellamelle leicht voneinander trennen. Dagegen zeigten die Zellwände im Innern des Gewebes normales Aussehen, waren weder geschwollen noch leicht zu trennen.

Kontrollexperimente wurden angestellt, bei denen man nach 4 Tagen die Manometer- und die Pyrogallusflasche voneinander

trennte und der Luft erlaubte, in die Flaschen einzudringen; bei nachfolgender Untersuchung erwiesen sich die darin enthaltenen Stücke als vollkommen faul. Wir können also daraus schließen, daß die Wirkung des *P. destructans* nur so lange dauert, als Oxygen vorhanden ist.

Bei diesen Experimenten wurden sowohl Kartoffeln als Rüben verwendet, und in beiden Fällen war der Erfolg derselbe, angenommen, daß bei der Kartoffel, wenn die Flasche mit der Pyrogallussäure und dem Manometer verbunden war, unmittelbar nach der Inokulation der Stücke keine Blasen von Kohlensäure um die Biegung aufstiegen und kein Zeichen von Fäulnis vorhanden war.

Eigenschaften von *Pseudomonas destructans*.

Fundort. Auf wachsenden Rüben, wo es die „Weißfäule“ in den lebenden Geweben hervorbringt.

Morphologie. Kurze, bewegliche Stäbchen, $3 \mu \times 8 \mu$, mit einer einzigen polaren Geißel.

Kulturen. Sind nur bei Gegenwart von Sauerstoff möglich.

Gelatine-Petri-Schalen. Bildet runde, weißgraue Kolonien. Verflüssigt die Gelatine.

Gelatine-Stichkulturen. Wächst schnell längs der Bahn des Drahtes und bildet eine trichterförmige Röhre von flüssiger Gelatine mit einem weißen, wolkigen Niederschlag in dem flüssigen Teile.

Agar. Weißes, glänzendes Wachstum.

Rübe. Wächst schnell als Parasit.

Kartoffel und Möhre. Ebenso wie auf Rübe.

Runkelrübe. Kein parasitisches Wachstum.

Brühe. Koch's Bouillon und Rübe. Wird wolkig und opak.

Fermente. Eine Cytase, die die Schwellung und Erweichung der Zellwand und die Auflösung der Mittellamelle herbeiführt.

Fermente. Ein Diastas. Ein peptonisierendes Ferment, Verflüssigung der Gelatine hervorbringend.

Toxin. Oxalsäure als Stoffwechselprodukt in Rübensaft und in Pasteur's Lösung, die Zucker enthält.

Färbungen. Färbt sich schnell mit den gewöhnlichen Anilinfarben, aber nicht nach Gram's Methode.

Reaktion. Residualprodukt immer sauer.

Reichliche Entwicklung von CO^2 während der Gärung.

Unter den verschiedenen Bakterien, die bis jetzt als Verursacher von Pflanzenkrankheiten bekannt sind, nähert sich das hier besprochene am meisten dem von Kramer als die Kartoffel befallend (Naßfäule) beschriebenen. Kramer's Bacillus stimmt darin mit dem meinigen überein, daß er Gelatine schnell verflüssigt, die Mittellamelle und endlich die Zellwand zerstört. Die Größe giebt er auf $2,5 \mu$ Länge und $7-8 \mu$ Breite an, den Verhältnissen des Rübenbakteriums sehr nahe kommend. Er beschreibt zwei Stadien in dem Zerfall der Kartoffel; zuerst ein saueres Stadium, während dessen Butter- und Kohlensäure abgesondert werden. In diesem Stadium werden die Zuckerstoffe, dann die Intercellularsubstanz und zuletzt die Zellwände zerstört; Stärke wird nicht angegriffen. Im zweiten Stadium werden die Proteide zersetzt, Ammoniak,

Methylamin, Trimethylamin und andere Produkte gebildet; in diesem Stadium werden die Säuren neutralisiert. Bei der Einwirkung des *P. destructans* auf Rüben und Kartoffeln wird CO_2 abgesondert und die Reaktion der Pulpa ist immer sauer. Ein befreundeter Chemiker, den ich befragte, konnte nicht bestimmt sagen, ob Buttersäure, Methylamin und Trimethylamin vorhanden seien: er meinte, sie wären vorhanden, aber die Zersetzung sei von mehr komplizierter Art. *P. destructans* unterscheidet sich von Kramer's *Bacillus* darin, daß er ein Diastas absondert und immer ein saueres Produkt liefert. Ferner verflüssigt *P. destructans* die Gelatine in kreisförmigen Flecken; die von Kramer beschriebene blattartige Bildung habe ich niemals gesehen, noch die anscheinend ungegliederten, bis 16μ langen Fäden auf Nährplatten gefunden. Auch Pammel und Smith haben eine *Pseudomonas* (*P. campestris*) beschrieben, die in der Wurzel und den Blättern mehrerer Cruciferen eine „Braunfäule“ verursacht; offenbar eine ganz verschiedene Form.

Die Wirkung der Bakterien auf die Zellwand höherer Pflanzen ist von mehreren Beobachtern studiert worden. Van Tieghem, der wahrscheinlich mit gemischten Kulturen arbeitete, hat die Zerstörung der Cellulose dem *Bacillus amylobacter* zugeschrieben. Van Sensus hat ein Enzym isoliert und seine auflösende Kraft für Cellulose von 2 Bakterien hergeleitet, darunter einem anaërobischen, die symbiotisch lebten. Winogradsky und Fribes haben ein anaërobisches Bakterium isoliert, welches beim „Flachsrstöten“ die Mittellamelle zerstört und die Bastfasern frei macht, ohne jedoch eine Wirkung auf die Cellulose auszuüben. Arthur schreibt die Wirkung der Bakterien bei der Bakteriosis der Nelken einem Enzym zu, aber ohne es zu isolieren.

Bis vor kurzem war es mir unbekannt, daß Jemand aus Bakterien ein Enzym isoliert habe, das die Mittellamelle lebender Pflanzen angreifen und so eine Pflanzenkrankheit verursachen könnte. Laurent's wertvolle Arbeit „Recherches expérimentales sur les maladies des plantes“ erhielt ich erst im August 1899. Sie wurde im Dezember 1898 publiziert, gleichzeitig mit einer vorläufigen Arbeit, die ich in der University of Durham Philosophical Society vorlas, aber vorher, schon im Januar 1898, machte ich einen kurzen Bericht an die Royal Society, der die Resultate meiner Arbeit enthielt, nämlich die Isolierung eines spezifischen Bakteriums, das die „Weißfäule“ der Rüben hervorbringt, und eines Enzyms, das die Mittellamelle auflöst und die Erweichung und Schwellung der Zellwand bewirkt. Meine Lehrthätigkeit hat mich verhindert, die vollständige Arbeit früher zu veröffentlichen.

Laurent hat bei seinen Untersuchungen über die Kartoffel und die Ursachen ihres größeren oder geringeren Widerstandes gegen Bakterienkrankheiten ebenfalls das Vorhandensein einer Cytase festgestellt, welche die Mittellamelle auflöst, schnell die Zellgewebe erreicht und den Zerfall der Zellen verursacht.

Der Organismus, der den Hauptgegenstand von Laurent's Studien ausmachte, der *Bac. coli communis*, ist sehr selten

fähig, als Parasit auf Kartoffeln und anderen Pflanzen zu leben. Laurent giebt an, daß es nötig war, die Knollen durch ausnahmsweise Kulturen ihrer Widerstandsfähigkeit zu berauben, um den Bacillus zu befähigen, sich auf der Kartoffel zu entwickeln. Von da an wurde seine Virulenz vermehrt durch successive Kulturen auf Knollen von geringem Widerstande, bis anfangs sehr widerstandsfähige Varietäten zuletzt von dem Parasiten angegriffen wurden. Die Virulenz verschwand, sobald das Mikrobium nicht länger auf einer lebenden Knolle kultiviert wurde; Kulturen in Nährlösungen genügten, um die Fähigkeit des Parasiten zu vernichten, und von da an konnte sie nur nach spezieller Vorbereitung in alkalischen Lösungen wiederhergestellt werden.

P. destructans dagegen wuchs üppig in Nährmitteln und konnte selbst nach vielen Kultivierungen aus diesen auf Stücke von lebender Rübe inokuliert werden, wo in ungefähr 12 Stunden alle Erscheinungen der Fäulnis auftraten; ebenso schnell ergriffen Kulturen sowohl in Nährmitteln als auf Rüben die Gewebe der Kartoffel. Ob sie nun in saprophytischer Form existiert oder nicht, so ist doch sicher festgestellt, daß als Parasit die *Pseudomonas* die Rübe befällt und wahrscheinlich nicht auf die Rübe allein beschränkt ist. Wehmer hat kürzlich zu beweisen versucht, daß bei der Naßfäule der Kartoffel die Bakterien nicht parasitisch sind, und ihre Wirkung nur sekundär ist. Er behauptet, daß Bakterien nur totes oder krankes Gewebe angreifen, daß die Wärme und Feuchtigkeit der feuchten Kammern die Gesundheit der Zellen schädigen und Infektion nur unter Umständen möglich ist, die die Gewebe krank machen. Die Naßfäule, sagt Wehmer, beginnt mit Maceration der Gewebe; zwischen den sich trennenden toten Zellen sieht man zahlreiche kleine Blasen und Massen von einem kleinen stabartigen Schizomyceten. Das Anfangsstadium besteht in Pektin-gärung, worauf Gärung der Cellulose folgt. Mit diesen Prozessen stehen zwei besondere Bakterienformen in Verbindung. Wehmer's Beschreibung der faulenden Gewebe stimmt mit der meinigen überein, aber er erwähnt weder das Enzym noch die Kulturen der Bakterien. Sein Schluß, daß Bakterien nicht parasitisch sind, ist nicht annehmbar, wegen der Isolierung des speziellen Enzyms durch Laurent und durch mich, und wegen meiner Experimente, die die Infektion gesunder, unter vollkommen natürlichen Verhältnissen wachsender Rüben beweisen.

Durch zahlreiche Beobachtungen im Freien bin ich zu dem Schlusse gelangt, daß *P. destructans* immer durch eine verwundete Oberfläche eindringt. Außer in Fällen, in denen der Zerfall sich schon weit ausgebreitet hat, wird die Rolle, von der der Zerfall ausgeht, immer durch eine Wunde der Epidermis und der darunter liegenden Gewebe angezeigt. Diese Beobachtung wird gestützt durch die Unmöglichkeit, gesunde Wurzeln anders als durch einen vorher gemachten Einschnitt zu infizieren, und aus zahlreichen Versuchen geht hervor, daß *P. destructans* unfähig ist, Zerfall hervorzubringen, wenn er nicht mit den Parenchymzellen der Rinde in Berührung gebracht wird. Man sieht häufig an den Wurzeln durch verschiedene Larven oder Schnecken ge-

machte Wunden, durch die das Bakterium eindringen kann, und ich zweifle nicht, daß sie hier wirklich eindringen. Daß Schnecken die verschiedenen Krankheit-erzeugenden Organismen mit sich führen können und es wirklich thun, ist von Smith bei der Braunfäule des Kohls an *Agriolimax agrestis* und den Larven von *Plusia brassicae*, sowie bei der Braunfäule der Tomate an den Larven des Coloradokäfers nachgewiesen worden. Auch G. Wagner's Experimente beweisen, daß die Sporen mehrerer parasitischer Pilze sehr häufig durch Schnecken verbreitet werden.

Bakterienkrankheiten an Rüben sind viel häufiger, als man gewöhnlich meint, und die hier beschriebene wirkt oft sehr verheerend auf die Ernten, nicht nur im Felde, sondern auch in den Wintervorräten. Bei der Untersuchung zahlreicher, mir zur Prüfung zugesandter Exemplare fand ich bald, daß das, was allgemein als „Finger und Toe“ und als „Grub“ (Kropf) bekannt ist, sich durchaus nicht auf *Plasmodiophora brassicae* beschränkt, sondern daß viele andere Organismen, einzeln oder in Verbindung, bei der Zerstörung lebender Rübenarten eine wichtige Rolle spielen. Finger and toe ist überall so häufig, daß man oft zu eilig annimmt, *Pl. brassicae* sei die einzige Ursache der Krankheit, und die anderen Wirkungen seien nur sekundär. Ich habe die Rübenarten von *Fusarium* und auch von *Botrytis* befallen gefunden, und wahrscheinlich sind diese nicht die einzigen pflanzlichen Parasiten dieser Gewächse, und es sind fernere Untersuchungen nötig, ehe es möglich wird, die verschiedenen Organismen voneinander zu trennen und jedem seine Rolle zuzuweisen.

Litteratur.

- Arthur, J. C., Bacteriosis of Carnations. (Bulletin 59. 1896. Agricultural Experiment Station, Purdue University.)
 Bary, A. de, Ueber einige Sklerotinien und Sklerotienkrankheiten. (Botan. Zeitung. 1886.)
 Fribes, Lafar. (Technical Mycology. p. 197.)
 Kramer, E., Bakteriologische Untersuchungen über die Naßfäule der Kartoffelknollen. (Bot. Centralbl. Vol. XLVIII. 1891.)
 Lafar, Technical Mycology. p. 192.
 Laurent, M. E., Les maladies des plantes. (Annal. de l'Inst. Pasteur. 1898. Déc., T. XIII. 1899.)
 Migula, W., System der Bakterien. Jena 1897.
 Omelianski, Sur la fermentation de la cellulose. (Compt. rend. 1895.)
 Pammel, Bacteriosis of Rutabaga. (Bulletin 27. Iowa Agricultural College. 1895.)
 Potter, White Rot of the Turnip. (Proc. of the University of Durham Phil. Soc. 1899.)
 Smith, E. F., *Pseudomonas campestris*: the cause of Brown Rot in Cruciferous Plants. (Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. III. 1897; Spread of Plant Diseases, Massachusetts Horticultural Society. 1897. March.)
 Van Senus, Beiträge zur Kenntnis der Cellulosegärung. Leiden 1890.
 Van Tieghem, Sur la fermentation de la Cellulose. (Bull. de la Société de France. 1879.)
 Wagner, G., Quoted by E. F. Smith. (Spread of Plant Diseases.)
 Wehmer, C., Die Bakterienfäule (Naßfäule) der Kartoffelknollen. (Berichte d. deutsch. bot. Ges. Bd. XVI. 1898.) — Ueber den Einfluß der Temperatur auf die Entstehung freier Oxalsäure in Kulturen von *Aspergillus niger*. (Berichte d. deutsch. bot. Ges. Bd. IX. 1891.)
 Winogradsky, Lafar. (Technical Mycology. p. 197.)
 Ward, H. Marshall, A Lily Disease. (Annals of Botany. Vol. II. 1888.)

Referate.

Beijerinck, M. W., On different forms of hereditary variation of microbes. 8°. 14 p. (Kon. Akad. v. Wetenschappen. Amsterdam 1900. 27. Okt.)

Mehrfach sind bei im Laboratorium gezüchteten Bakterien im Laufe successiver Kulturen so starke Veränderungen beobachtet worden, daß schließlich Formen entstanden sind, die von dem Ausgangsmaterial so weit abwichen, daß man sie, ohne ihre Entwicklung zu kennen, sicher für andere Species halten würde. Bei diesen Veränderungen unterscheidet Verf. 3 Fälle, nämlich „Degeneration“, „Transformation“ und „gewöhnliche Variation“.

Die Degeneration besteht darin, daß ein Organismus anfangs sich gut vermehrt, bei successiven Kulturen aber allmählich seine Wachstumsfähigkeit verliert. So verliert *Streptococcus Hollandiae* bei unzweckmäßiger Sauerstoffzufuhr zunächst die Fähigkeit, Schleim zu bilden, und hört bald überhaupt auf zu wachsen und *Photobacter degenerans* Fischer degeneriert in ganz kurzer Zeit ohne bekannte Ursache.

Bei der Transformation tritt eine Aenderung aller Individuen einer Kultur ein, indem diese eine bestimmte Eigenschaft verlieren, dafür aber eine andere erwerben können, aber nicht müssen. *Photobacter luminum* verliert unter Umständen das Leuchten, aber das Wachstum nimmt zu; *Bacillus viridis* verliert das Vermögen Gelatine zu verflüssigen, während gewisse Vibrionen umgekehrt diese Fähigkeit erhalten. Obwohl diese neuen Formen ganz den Eindruck von Species machen, dürfen sie doch ebensowenig, wie die des folgenden Falles, als solche betrachtet werden, denn zum Wesen einer Species gehört es nach Ansicht des Verf.'s, daß sie in mehr als einer Eigenschaft von anderen Species abweicht.

Die dritte und häufigste Veränderung ist die „gewöhnliche Variation“; hier bleibt die Hauptmasse einer Kultur unverändert und nur einzelne Individuen bekommen andere Eigenschaften, diese werden als „Varianten“ bezeichnet. Sie entsprechen den „Rassen“ der Kulturpflanzen und behalten die neu gewonnenen Eigenschaften durch ungezählte Generationen hindurch bei, was indes gelegentliche Rückschläge nicht ausschließt. Die Varianten können vielleicht in einzelnen Fällen plötzlich entstehen, wahrscheinlich so, daß die 2 Hälften einer sich teilenden Zelle ungleich werden, meist aber bilden sie sich langsamer vermittelt einer größeren Zahl von Zellteilungen; im letzteren Falle sind die Varianten durch einige Uebergänge, die sogenannten Subvarianten, mit der Urform verbunden. Die Subvarianten treten aber in relativ geringer Zahl auf und haben die Neigung, zur Ausgangsform zurückzukehren oder zur Variante sich weiter zu entwickeln; doch können auch sie — durch Koloniselektion — in ihren Eigenschaften festgehalten werden (es scheint

ja jeder scharf ausgesprochene, wenn auch schwache Grad von Variation vererbbar zu sein). In theoretischer Hinsicht ist die Ausbildung neuer Formen auf dem Wege der Zellteilung interessant, denn man hat vielfach geglaubt, daß bei jeder Teilung 2 durchaus „erbgleiche“ Zellen entstehen müßten.

Von einzelnen Beispielen für die Variation beschreibt Verf. zunächst die Varianten von *Schizosaccharomyces octosporus*. In der Natur kommen 2 Varietäten dieses Organismus vor, die sich durch die Gestalt der sporenbildenden Zelle unterscheiden. Beide haben die Neigung, in Kultur Varianten zu bilden, deren Zellen kugelig sind und die keine Sporen bilden. Sie haben sich während 3 Jahren konstant gehalten.

Den *Bacillus prodigiosus* kennt Verf. in 3 Varietäten: eine verflüssigt Gelatine, die anderen nicht; die zweite vergärt Kohlehydrate unter H-Bildung; die dritte kann das nicht. Alle 3 bilden farblose Varianten, die im übrigen die Eigenschaften der Varietät, von der sie abstammen, sorgfältig konservieren. Die Varianten blieben in der Kultur ganz konstant, Rückschläge kamen nicht zur Beobachtung; würde man sie in der Natur gefunden haben, so hätte man sie zweifellos nicht mit *B. prodigiosus* vereinigt.

Photobacter indicum macht 2 Varianten, eine (*parvum*) ist durch Bewegungslosigkeit und geringes Wachstum ausgezeichnet, die andere (*obscurum*) leuchtet nicht. Die Originalart, aus der beide entstanden sind, wurde nur in der Gegend von Santa Cruz gefunden; sie ist seit 13 Jahren in Kultur und hat ihre Eigenschaften noch nicht verändert. *Parvum* zeigt eine große Neigung zu Atavismen, während *Obscurum* viel konstanter ist. Die Art und Weise, wie die Varianten von *Photobacter indicum* entstehen, ist natürlich nicht genau festzustellen, doch versucht Verf., an der Hand einiger Schemata die verschiedenen Möglichkeiten zu diskutieren. — Verf. hat in der Nordsee *Photobacter indicum* nie gefunden, aber 2 ihm sehr nahestehende Formen: *Ph. splendidum* und *splendor maris*; beide bildeten in Kultur leicht Varianten; wahrscheinlich kommen diese auch in der Natur vor und die *Obscurum*-Form würde, aus der Natur isoliert, gar nicht zu *Photobacter* gestellt werden. Jost (Straßburg i. E.).

Helm, L., Ueber die Bedeutung der Bakteriologie bei der Lebensmittelkontrolle. (Zeitschr. für Untersuchung der Nahrungs- u. Genußmittel, sowie der Gebrauchsgegenstände. 1900. Heft 11.)

Eine vollständige Kontrolle der Nahrungsmittel ohne Herbeizziehung der Bakteriologie kann heutzutage nicht mehr angefüßt werden. Ganz besonders spielt dieselbe bei der Untersuchung von Wasser und Milch eine bedeutende Rolle, daneben können noch andere Lebensmittel in Betracht kommen, die entweder von einem verdächtigen Tier stammen oder die nachträglich durch Abfallstoffe aus dem menschlichen Haushalt, durch unreinliche Behandlung u. s. w. verseucht erscheinen. Bei den pflanzlichen Nahrungsmitteln

kann die bakteriologische Untersuchung dann von Nutzen sein, wenn es sich um die Frage handelt, ob dieselben entweder durch Berührung mit verseuchtem Boden oder Wasser, etwa mit Cholera- oder Typhusbakterien infiziert worden sein können, oder ob sie während oder nach der Zubereitung durch unsaubere Berührung, durch Eindringen von schädlichen Bakterien verändert worden seien, so daß die Krankheitskeime entweder nur außen anhaften, oder daß sich giftliefernde Zersetzungen geltend machen. Verf. spricht den Wunsch aus, es möchten in den hygienisch-bakteriologischen Instituten besondere Abteilungen errichtet werden zur Untersuchung von Lebensmitteln, von Gebrauchsgegenständen und für medizinische Diagnostik. Diesen Abteilungen würde auch die Untersuchung von Gebrauchsgegenständen, von Handelswaren, z. B. von Tierfellen auf etwa anhaftende Krankheitserreger, obliegen. Ferner würde die Prüfung der Leistungsfähigkeit von Desinfektionsapparaten mit Hitze oder von chemischen Desinfektionsmitteln eine wichtige Stelle im Arbeitsgebiete der genannten Stationen einnehmen.

Thomann (Bern).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. ARTHUR WÜRZBURG,
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

- Report, annual, of the Imperial bacteriologist for the year 1899—1900. Fol. 30 p. Calcutta 1900.
Sedgwick, W. T., The origin, scope and significance of bacteriology. (Science N. S. 1901. No. 317. p. 121—128.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

- Dastre, A.**, A propos de la recherche des ferments endo-cellulaires par la dialyse chloroformique. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1901. No. 7. p. 171—173.)
Elrod, M. J., Methods for the preparation and study of microscopic organisms. (Journ. of applied microsc. 1900. No. 10. p. 1013—1023.)
Epstein, St., Zur Technik der Anaërobiose. (Prag. med. Wchschr. 1901. No. 7. p. 83—84.)
Guiraud et Gantlé, Méthode générale de coloration des bactéries au moyen du bleu d'aniline soluble à l'eau. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1901. No. 7. p. 190—192.)
Hamberger, P., Ein einfaches Gärungs-Saccharimeter. (Pharmac. Ztg. 1901. No. 17. p. 174—175.)
Peppler, A., Ein einfaches Verfahren zur Darstellung der Geißeln. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXIX. 1901. No. 8. p. 345—355.)
Weleminsky, F., Ueber die Kultivierung lange wachsender Mikroorganismen. (Prag. med. Wchschr. 1901. No. 7. p. 82—83.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

- Aso, K.**, A physiological function of oxydase in Kaki-fruit. (Botan. magaz. Tokyo. 1900. No. 166. p. 179—180.)

- Bashore, H. B.**, The malarial mosquito on the Susquehanna. (Med. record. 1901. No. 5. p. 173.)
- Bokorny, Th.**, Milchsäureferment und Labenzym. (Allg. Brauer- u. Hopfen-Ztg. 1900. No. 37. p. 421.)
- Caulley, M. et Mesnil, F.**, Le parasitisme intracellulaire et la multiplication asexuée des grégaires. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXII. 1901. No. 4. p. 220—223.)
- Chrétien, P.**, Description de la chenille de *Zelleria ribesiella* de Joann. (Microlép.) (Bullet. de la soc. entomol. de France. 1900. No. 20. p. 393—394.)
- Cockerell, T. D. A.**, A new *Eriococcus* (*quercus-toumeyii* subsp. nov.) with remarks on the species. (Entomol. News. Vol. XI. 1900. No. 9. p. 594—596.)
- Cotte, J.**, Note sur les diastases du *Suberites domuncula* (Spongiaires). (Compt. rend. de la soc. de biol. 1901. No. 4. p. 95—97.)
- Diamare, V.**, *Paronia Carrinii* n. gen. n. sp. di Tenioide a duplici organi genitali. (Bollett. d. musei di zool. ed anat. compar. di Genova. 1900. No. 91. 8 p.)
- Eckstein, K.**, Zur Biologie des Kiefernspanners. (Allg. Forst- u. Jagd-Ztg. Jan. 1901. p. 18—21.)
- Gillette, C. P.**, Entomological notes from Colorado. (Proceed. of the 12. annual meet. of econom. entomol. 1900. p. 76—80.)
- Green, E. E.**, Remarks on Indian scale-insects (Coccidae) with descriptions of new species. (Ind. Mus. notes. Vol. V. 1900. No. 1. p. 1—13.)
- Haase, C.**, Primär verkalkte Trichinen. (Fleischbeschauer. Magdeburg 1901. No. 3. p. 21—22.)
- Hanriot**, Sur le mécanisme des actions diastatiques. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXII. 1901. No. 4. p. 212—215.)
- Hansen, E. Chr.**, Recherches sur les bactéries acétifiantes. [3. mémoire.] (Compt. rendu d. travaux du laborat. de Carlsberg. Vol. V. 1900. Livr. 1. p. 39—46.)
— —, Untersuchungen über die Physiologie und Morphologie der alkalischen Fermente. X. Die Abänderung der Saccharomyceten. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. 1901. No. 4—7. p. 41—49, 57—61, 68—69, 82—86.)
- Howard, L. O.**, Notes on the mosquitoes of the United States: giving some account of their structure and biology, with remarks on remedies. (U. S. Departm. of Agricul. Divis. of entomol. N. S. Bullet. No. 25. gr. 8°. 70 p. Washington 1900.)
- Jacoby, M.**, On new genera and species of phytophagous coleoptera from South and Central Africa. (Proceed. of the zoolog. soc. London 1900. Part II. p. 203—268.)
- de Joannis, J.**, Description d'une nouvelle espèce de Microlépidoptère de France, *Zelleria ribesiella*. (Bullet. de la soc. entomol. de France. 1900. No. 20. p. 391—393.)
- Lucas**, Le ferment panaire. (Meunier. 1900. p. 188—189.)
- Marlatt, C. L.**, The European pear scale (*Diaspis pyricola* Del Guercio). (Entomol. News. Vol. XI. 1900. No. 9. p. 590—594.)
- Matsumura, S.**, Die schädlichen Lepidopteren Japans. (Illustr. Ztschr. f. Entomol. 1900. No. 21, 23, 24. p. 324—329, 366—368, 379—382. 1901. No. 2. p. 21—25.)
- Matuschitz, F.**, Ueber neue Bakterien. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXIX. 1901. No. 9. p. 377—390.)
- Meissner, E.**, Ueber das Auftreten und Verschwinden des Glykogens in der Hefezelle. (Mitt. üb. Weinbau u. Kellerwirtschaft. 1900. No. 12. p. 178—183.)
- Montandon, A. L.**, Sur les insectes nuisibles en Roumanie. (Bullet. de la soc. scientif. Bucarest 1900. No. 2/3. p. 201—209.)
- de Namur, V.**, La nouvelle théorie de la fermentation alcoolique. (Bullet. prat. du brasseur. 1900. p. 517—519.)
- Pozzi-Escot, C.**, Les diastases et leurs applications. Paris (Gauthier-Villars) 1901. 16°. 219 p. 2,50 fr.
- Prowasek, S.**, Zur Naturgeschichte der Lärchenlaus (*Chermes laricis*). (Natur. 1901. No. 1. p. 4—6.)
- Beh, L.**, Züchtergebnisse mit *Aspidiotus perniciosus* Comst. (Botan. Museum. Abt. f. Pflanzenschutz zu Hamburg. II. 1899/1900. Hamburg 1900. p. 1—21.)
- Siedlecki, M.**, Sur les rapports des grégaires et de l'épithélium intestinal. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXII. 1901. No. 4. p. 218—220.)

- Tämpel, E.**, Ueber die Lebensweise einiger Heuschreckenarten (*Locusta viridissima*, *Decticus verrucivorus*, *Meconema varium*). (Allg. Ztschr. f. Entomol. 1901. No. 1. p. 3—7.)
- Weinland, E.**, Ueber den Glykogengehalt einiger parasitischer Würmer. (Ztschr. f. Biologie. Bd. XLI. 1901. Heft 1. p. 69—74.)
- Will, H.**, Einige Beobachtungen über die Lebensdauer getrockneter Hefe. [V. Nachtrag.] (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. 1901. No. 1. p. 3—4.)
- Wolf, F.**, Présence de l'alcool méthylique dans les jus fermentés de divers fruits. (Journ. de la distillerie franç. 1901. No. 870. p. 61—62.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Nahrungs- und Genußmittel, Gebrauchsgegenstände.

Fleisch.

- Bail, O.**, Zur Frage nach der Entstehung von Fleischvergiftungen. (Prag. med. Wchschr. 1901. No. 7. p. 81—82.)

Milch, Molkerei.

- Adametz, L.**, Neue Versuche größeren Maßstabes mit Reinkulturen des *Bacillus nobilis* in der Käsepraxis. [Aus: Oesterr. Molkerei-Ztg.] gr. 8^o. 42 p. Wien (Carl Fromme) 1901. 0,60 M.
- Chalmers**, The sources of milk-impurities. (Sanit. Journ. Glasgow. 1900. No. 84. p. 627—639.)
- Henseval, M.**, Les ferments de la caséine et leur rôle dans la maturation des fromages. (Rev. d. questions scientifi. 1900. p. 192—221.)
- Johannessen, A.**, Ueber die Sterilisation der Milch. (Jahrb. f. Kinderheilk. 3. F. Bd. III. 1901. Heft 3. p. 251—271.)
- Rigaux, F.**, Ferments purs pour la fabrication des fromages. (Laiterie prat. 1900. p. 241—242.)
- Wenck, F.**, La fermentation des crèmes. (Laiterie belge. 1900. p. 169—175.)

Bier, Brauerei.

- Gaessler-Noirot, M.**, Etudes pratiques sur l'atténuation des moûts. (Moniteur de la brasserie. 1900. No. 2139, 2140, 2142.)
- Kleine & Cie.**, Zur Frage der Bodenkäferplage. (Allg. Brauer- u. Hopfen-Ztg. 1901. No. 6. p. 61.)

Wein, Weinbereitung.

- Coudon, H. et Facottet, P.**, De l'influence du tannin sur la fermentation et la couleur des vins rouges. (Rev. de viticult. 1901. No. 372. p. 121—124.)
- Paturel, G.**, Les maladies des vins et leurs traitements. (Vigne améric. 1901. No. 1, 2. p. 23—30, 46—54.)
- Seifert, W.**, Die Organismen der alkoholischen Gärung in der Weinbereitung. (Weinlaube. 1901. No. 1—4. p. 2—4, 13—15, 25—27, 37—39.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

- Marchal, E.**, Les microbes en sucrerie. (Ingénieur agric. de Gembloux. 1900. p. 154—158.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

- Aimé, A.**, La maladie du peuplier es ses différentes phases. 8^o. 16 p. Niort (Clouzot) 1901.
- Cook, O. F.**, Peach yellows: a cause suggested. (Science. N. S. Vol. XII. 1900. No. 310. p. 875—881.)

- De la Hayrie, H.**, Le kermès et la cochenille. (Bullet. hortie., agric. et apic. 1900. p. 233—235.)
- Derwa**, De hamster of koorwijnfke. (Landbouwbbl. van Limburg. 1900. p. 446—448.)
- Derwa, P.**, Le hamster. (Coopér. agric. 1900. No. 40.)
- Equeter, Ph. J.**, Le charançon. (Bullet. prat. du brasseur. 1900. p. 501—502.)
- Franceschini, F.**, Per combattere la Diaspis pentagona. (Atti d. 4. congr. naz. d. baccol. e sericolt. 1898, 4—6. sett. 1899.)
- de Joannis, J.**, Description d'un microlépidoptère nouveau, nuisible au vanillier et provenant de l'île de la Réunion. (Bullet. de la soc. entomol. de France. 1900. No. 13. p. 262—263.)
- Johnson, W. G.**, Notes on insects of economic importance for 1900. (Proceed. of the 12. annual meet. of econom. entomol. 1900. p. 80—84.)
- de Kayser, F.**, Het besproeien der aardappels. (Landbouwgalm. 1900. No. 25.)
- Klipp, O.**, De ziekte der aardappelen. (Tijdschr. over boomteelt. 1900. p. 264—266.)
- Kober, F.**, Stand der Reblausbekämpfungsarbeiten in Niederösterreich. (Allg. Wein-Ztg. 1900. No. 50. p. 501—503.)
- Lesne, P.**, Destruction du charançon du blé. (Journ. de la soc. roy. agric. de l'est de la Belgique. 1900. p. 199.)
- Londinières**, Destruction des taupes. (Réclame. 1900. No. 41.)
- Marlatt, C. L.**, How to control the San José scale. (U. St. Departm. of Agricult. Divis. of entomol. 1900. Circ. No. 42. 6 p.)
- Schribaux, E.**, Méthode nouvelle pour la destruction de mauvaises herbes. (Journ. de la soc. agric. du Brabant-Hainaut. 1900. p. 900.)
- Stone, G. E.**, The black-rot of the plum and cherry (Plowrightia morbosa, Schw. and Sacc.) (Commonwealth of Massachusetts. State Board of Agricult. 1900.) 8°. 4 p.
- Weiss, J. E.**, Die Grundlagen eines planmäßigen Pflanzenschutzes. (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1901. Heft 1. p. 1—3.)

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

- Dawitt, St.**, Zur Frage über die Wirkung des Formaldehyds auf Getreidesamen und Brandsporen. (Résumé.) (Sitzber. d. Naturforscher-Ges. bei d. Univers. Jurjeff. Bd. XII. 1899. Heft 2. p. 202—204.)

Inhalt.

Originalmittheilungen.

- Chrassos, T.**, Die „Chinesische Hefe“. (Orig.), p. 326.
- Holts, Wilhelm**, Beitrag zur Kenntniss der Baumflüsse und einiger ihrer Bewohner. (Orig.) [Schluß], p. 338.
- Iwanowski, D. und Obrastzow, S.**, Ueber die Wirkung des Sauerstoffes auf die Gärung verschiedener Hefearten. (Orig.), p. 305.
- Ludwig, F.**, Pilzflüsse der Bäume. (Orig.), p. 350.
- Wehmer, C.**, Der javanische Ragi und seine Pilze. (Orig.), p. 313.

Original-Referate aus den Sitzungen gelehrter Gesellschaften.

- Potter, M. C. u. Foster, M.**, Ueber eine Bakterienkrankheit der Rüben (Brassica Napus). (Orig.) [Schluß], p. 353.

Referate.

- Beijerinck, M. W.**, On different forms of hereditary variation of microbes, p. 363.
- Heim, L.**, Ueber die Bedeutung der Bakteriologie bei der Lebensmittelkontrolle, p. 364.

Neue Litteratur, p. 365.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Prof. Dr. J. Behrens in Weinsberg i. W.,
Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Dr. v. Freudenreich in Bern, Privatdocent
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Dr. G. Harris Morris
in London, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädenswil, Dr. Erwin F. Smith in
Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr.,
Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel
und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VII. Band.

Jena, den 17. Mai 1901.

No. 11.

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 90 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnnummer 1 Mark 50 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

**Die im Mistе vorkommenden Bakterien und deren
Rolle bei der Zersetzung desselben.**

[Aus dem Laboratorium der bakteriologisch-agronomischen Station
der kaiserl. russischen Acclimatisationsgesellschaft für Pflanzen
und Tiere in Moskau.]

Von S. Severin in Moskau.

[Vierte Mitteilung.]

In vorliegender Arbeit, als Fortsetzung der schon früher in
dieser Zeitschrift ¹⁾ unter demselben Titel abgedruckten Mit-

1) 1895. No. 3, 4/5, 22/23; 1897. No. 23/24.

teilungen, beabsichtigen wir, noch einige den vorhergehenden analoge Versuche vorzuführen. Dieselben haben den Zweck, den Zerstörungsprozeß von organischen Substanzen im allgemeinen zu verfolgen, welcher unter dem Einfluß der Lebensthätigkeit dieser oder jener aëroben Bakterien in total frischem Mist vor sich geht. Zur Beurteilung eines solchen allgemeinen Zerstörungsprozesses im Mist benutzen wir die Mengen CO_2 und NH_3 , welche aus einem gewissen Versuchsquantum Mist entwickelt werden. Zu den Versuchen wurden dabei beständig sterilisierte Milchportionen nebst Reinkulturen der an den Versuchen teilnehmenden Bakterien benutzt. Eine derartige Versuchsordnung giebt uns die Möglichkeit, derartige Fragen zu beantworten, wie z. B.: Was für Arten von Bakterien besitzen eine mehr oder weniger energische Zerstörungsfähigkeit in Betreff der organischen Bestandteile des Mistes, in welchen quantitativen Verhältnissen geschieht dieser Zerstörungsprozeß, wie schnell wird er zu Ende gebracht durch die eine oder die andere Art der genannten Lebewesen, wie äußert sich die Lebensthätigkeit derselben im einzelnen und in verschiedenen Kombinationen untereinander, aus welchen Bestandteilen des Mistes geht die Bildung CO_2 und NH_3 vor sich u. dergl. mehr?

In Folgendem wollen wir in kurzem die Aufstellung unserer Versuche in Erinnerung bringen. Bei allen Versuchen wurde jedesmal ein und dieselbe Mischung von Bestandteilen des Mistes benutzt, bestehend aus 150 g ganz frischer Exkremente, 15 g Stroh, 50 ccm Pferdeharn, direkt unter dem Pferde entnommen, und 50 ccm Wasser. Die Mischung wurde im Autoklaven sterilisiert während einer halben Stunde unter dem Druck von zwei Atmosphären. Während der ganzen Versuchsdauer wurde die betreffende Mistportion bei einer Temperatur von 30°C erhalten und durch das Glas, welches das Material enthielt, die ganze Zeit hindurch ein langsamer Luftstrom hindurchgesogen; die Luft strich über die Oberfläche des Versuchsmateriales. Beim Austritt aus dem Glase durchstrich die Luft eine Reihe von kleinen Apparaten, die mitgenommenen Mengen CO_2 und NH_3 in denselben zurücklassend. Alle Bakterien, die an den Versuchen teilnahmen, waren von uns aus Pferdemit isoliert worden. In Tabelle I sind die Resultate von 3 Versuchen angeführt; in jeder Versuchsportion des Mistes, die Exkremente, Harn und Stroh enthielt, vegetierte eine Bakterie in Reinkultur. Der Versuch 1 dieser Tabelle war eigentlich schon früher beschrieben unter No. 5 in unserer zweiten Mitteilung, wir führen ihn hier bloß aus dem Grunde an, weil er später zum Vergleich herangezogen werden soll; in dem Versuche war die stäbchenförmige Bakterie beteiligt, die ebenfalls in unserer zweiten Mitteilung unter No. 4 beschrieben ist. Im zweiten Versuche unserer vorliegenden Mitteilung nahm der allbekannte *B. indicus* teil, der dritte Versuch wurde ausgeführt unter der Mitwirkung ebenfalls einer stäbchenförmigen Bakterie, die wir in der Reihenfolge der schon früher beschriebenen Kulturen als No. 9 bezeichnen und deren genaue Charakteristik wir beifolgend anführen wollen.

No. 9.

Form der Kolonien auf Agar-Agar nach 24 Stunden bei 37—38° C. Die in der Tiefe des Nährsubstrats befindlichen Kolonien haben das Aussehen von kaffeebraunen Häufchen mit unregelmäßigen Konturen, die Oberfläche der Kolonien ist unregelmäßig granuliert; die Kolonien auf der Oberfläche des Nährsubstrats sind rundlich, hellgelbbraunlich gefärbt, an der Peripherie zum größten Teil vollständig hell gefärbt, die Oberfläche mit kleinen Wimperchen bedeckt, die Konturen hell, glatt, hier und da etwas buchtig; makroskopisch sind dieselben rund, grünlichweiß, wachsartig, flach, bei durchfallender Beleuchtung perlmutterartig glänzend.

Aussehen der Kolonien auf Gelatine nach 48 Stunden bei Zimmertemperatur: Fast alle Kolonien befinden sich schon im Zustande der Verflüssigung; sowohl auf der Oberfläche als auch in der Tiefe des Nährsubstrats von gleichartiger Form, vollständig rund, kaffeebraun, fein granuliert; die Konturen sind dunkel, glatt, scharf; sogar bei geringer Vergrößerung sieht man in den verflüssigten Teilen der Kolonien Bewegung von bakteriellen Massen. Kolonien, in denen die Verflüssigung noch nicht begonnen hat, sieht man verhältnismäßig wenig; derartige Kolonien auf der Oberfläche des Substrats sind unregelmäßig gerundet, hellgelblich gefärbt, an der Peripherie vollständig farblos, ihre Oberfläche ist granuliert, die Konturen sind hell, scharf, buchtig. Am 3. Tage hat die Verflüssigung sich nicht bedeutend erweitert, dieselbe bleibt begrenzt, die Kolonien behalten ihre vollständig runde Form, bloß in der Mitte werden sie heller, während der übrige Teil der Oberfläche sein früheres Aussehen beibehält, die Konturen sind scharf, glatt, in Form einer glänzenden hellen, schmalen Einfassung.

Strich auf Agar nach 24 Stunden bei 37—38° C dünn, die ganze Oberfläche des Substrats bedeckend, trocken, wachsartig. Unter dem Mikroskop sieht man fast ausschließlich Endosporen, hier und da trifft man auf Stäbchen, in welchen Endosporen enthalten sind. Dieser Bacillus zeigte übrigens, gleich nachdem er in Reinkultur isoliert worden war, bei der ersten Uebertragung auf Agar in Strichkultur unter dem Mikroskop eine höchst charakteristische stecknadelförmige Form, indem im dickeren Ende des Stäbchens je eine Endospore saß; bei den folgenden Impfungen wurde eine solche Form jedoch nicht mehr beobachtet.

Stich in Gelatine nach 24 Stunden dünn, durchsichtig, am 4. Tage bildet sich an der Einstichstelle eine kaum bemerkbare Vertiefung, die nach 7 Tagen schon bedeutend deutlicher hervortritt in Form eines Bläschens, um welches die weißgefärbte Kultur sich entwickelt. Im Laufe der Zeit senkt sich diese weiße, trübe, kompakte Masse immer tiefer, indem sie längs dem Stiche Schichten bildet; das Ende des Stiches dreht sich gewöhnlich spiralförmig zusammen. Nach 10—12 Tagen giebt es nur sehr wenig verflüssigte Gelatine, nach 3 Wochen ist die obere Schicht der Gelatine verflüssigt, bedeckt mit einem glatten, zarten Häutchen, unter

demselben die weiße, flockige Masse der Kultur, auf welche die klare Gelatineschicht folgt. In aus Mistextrakt bereiteter Gelatine geht die Verflüssigung bedeutend schneller vor sich.

Kultur in Fleischpeptonbouillon. Nach 24 Stunden ist die Bouillon trübe, mit einem Niederschlage am Boden des Gefäßes, der beim Schütteln sich in der Flüssigkeit leicht verteilt. Unter dem Mikroskop beobachtet man Stäbchen mit abgerundeten Enden, aus nicht mehr als 2 Gliedern bestehend, von 2—10 μ lang und 1—1,5 μ breit, mit aktiver, langsamer, aber verschiedenartiger Bewegung. Am nächsten Tage geht in der Bouillonkultur keine Veränderung vor sich, bloß wird der Niederschlag reichlicher; die Bildung von Endosporen tritt bedeutend später auf; der Bacillus färbt sich gleichmäßig.

Im hängenden Tropfen beobachtet man dasselbe wie in der Bouillon.

Strich auf Kartoffel am 3. Tage erweist sich schmal, dünn, gelb, glänzend; unter dem Mikroskop ist die Mehrzahl der Stäbchen in endosporer Bildung begriffen, obgleich die oben erwähnte Stecknadelform nicht vorkommt; sehr viele Stäbchen sind zu langen, unregelmäßig gebogenen Fäden vereinigt.

Milch wird nicht koaguliert, die Reaktion der Milch bleibt auch nach dem Wachstum des Mikroorganismus neutral, Geruch käseartig; unter dem Mikroskop zeigen die Stäbchen äußerst schnelle, verschiedenartige Bewegungen, die langen Stäbchen langsame, oscillierende Bewegungen.

Anaerobe Kulturen in Fleischbouillon zeigten keine Entwicklung.

Die Resultate der Versuche sind in Tabelle I niedergelegt.

Wie man sieht, besitzen alle 3 Mikroorganismen die Fähigkeit, eine energische Verbrennung der organischen Bestandteile des Mistes zustande zu bringen, unter ihnen erweist sich aber der *B. indicus* mit einer besonders lebhaften Oxydationskraft begabt, als zweiter folgt der Mikroorganismus No. 9 und als letzter No. 4. Gleich wie in den früheren Versuchen fällt auch hier das Maximum der ausgeschiedenen CO_2 auf die ersten oder zweiten 5 Tage nach Beginn des Versuches, worauf die Menge der sich entwickelnden CO_2 allmählich fällt und am Ende des 2. Monats der fermentative Prozeß fast vollständig aufhört. Was die Ausscheidung von NH_3 betrifft, so ersieht man aus den angeführten Zahlen, daß Mikroorganismus No. 9 kein NH_3 giebt, denn die 4 mg, die im Laufe von 60 Tagen von ihm geliefert wurden, stellen ein so geringes Quantum dar, daß es als Sterilisation des Mistes betrachtet werden kann. Der *B. indicus* und der Mikroorganismus No. 9 erweisen sich unzweifelhaft als Ursache der Ammoniakgärung des Harns, da der erstere während der 2-monatlichen Versuchsdauer 21 mg NH_3 gab, und No. 9 während derselben Zeit 29 mg NH_3 lieferte. Das äußere Ansehen der Versuchsportionen des Mistes hatte sich am Ende des Versuches sichtlich verändert, derselbe war dunkler geworden; besonders bemerkbar war das Nachdunkeln bei den Versuchen 1 und 2, bei welchen NH_3 gebildet wurde; die Mist-

Tabelle I.

Versuch 1, begonnen am 20. Novbr. 1894 mit Mikro- organismus No. 4			Versuch 2, begonnen am 18. Sept. 1897 mit B. indicus		Versuch 3, begonnen am 20. Sept. 1897 mit Mikroorganismus No. 9	
Datum der Wägungen	Menge des ausgesch. CO ₂ in g	Datum der Wägungen	Menge des ausgesch. CO ₂ in g	Datum der Wägungen	Menge des ausgesch. CO ₂ in g	
25. November	2,315	23. Septemb.	2,5940	25. Septemb.	1,2628	
29. "	1,447	28. "	1,3132	30. "	1,5546	
4. Dezember	0,870	3. Oktober	0,9622	5. Oktober	1,0592	
9. "	0,513	8. "	0,7426	10. "	1,8422	
14. "	0,351	13. "	0,6052	15. "	0,5892	
19. "	0,251	18. "	0,5082	20. "	0,5088	
in 28 Tagen	5,747	in 30 Tagen	6,7154	in 30 Tagen	5,8168	
24. Dezember	0,129	23. Oktober	0,4022	25. Oktober	0,2852	
29. "	0,057	28. "	0,2102	30. "	0,2376	
3. Januar	0,067	2. Novemb.	0,2522	4. Novemb.	0,2282	
8. "	0,125	7. "	0,1976	9. "	0,1908	
13. "	0,183	12. "	0,1502	24. "	0,1494	
18. "	0,113	17. "	0,1856	19. "	0,1798	
23. "	0,094	21. "	0,1039	in 30 Tagen	1,2710	
in 35 Tagen	0,674	in 35 Tagen	1,5019	während 60 T. d. Versuch.	7,0878	
während 63 Tagen des Versuches	6,421	während 65 T. d. Versuch.	8,2173	Menge d. aus- gesch. NH ₃ in g währ. d. 60 Tage d. Versuch.	0,0040	
Menge des ausgesch. NH ₃ in g	während d. ersten 25 Tage	0,0192	Menge d. aus- gesch. NH ₃ in g währ. d. 65 Tage d. Versuch.	0,02135		
	während der folg. 35 Tage	0,0105				

portionen hatten einen scharfen Ammoniakgeruch und stark alkalische Reaktion. Im Versuche 3 war das Nachdunkeln weniger bemerkbar, Ammoniakgeruch war gar nicht vorhanden und die Reaktion des wässerigen Auszuges aus der Mistportion war bloß schwach alkalisch. Bei dem ersten Versuch, soweit man nach dem Äußeren beurteilen konnte, war der Mist während der Versuchszeit ein wenig eingetrocknet, d. h. erschien etwas weniger feucht als vor Beginn des Versuches, die beiden anderen Portionen zeigten denselben Feuchtigkeitsgrad wie am Anfang, wenn nicht mehr. Die bakteriologische Kontrolle der Mistportion nach Schluß der Versuche zeigte, daß dieselben ohne fremde Verunreinigungen vor sich gegangen waren. Es wäre hier am Platze, darauf hinzuweisen, daß der Mikroorganismus No. 9, wie aus der oben angeführten Beschreibung zu ersehen ist, nach seiner erstmaligen Isolierung aus dem Miste (im Jahre 1894) auf harten Nährbodensubstraten eine äußerst charakteristische Stäbchenform mit Bildung von Endosporen zeigte; die Stäbchen hatten nämlich Stecknadelform, bald aber, schon nach einigen Neukulturen von Agar auf Agar, machte die genannte Stäbchenform einer anderen Platz, und das Erscheinen von Sporen am Ende der Stäbchen verursachte niemals mehr eine Verdickung am Ende des Stäbchens. Jetzt, nachdem der Mikroorganismus im

3. Versuch eine neue Vegetationsperiode im Miste hinter sich hatte, glaubten wir, daß er seine Fähigkeit, bei der Sporenbildung in stecknadelförmigen Stäbchen aufzutreten, würde zurückverlangt haben. In Wirklichkeit erwies es sich aber nicht so; die erste Kultur, die aus dem Miste nach Beendigung des 3. Versuches erhalten wurde, gab bei der Sporenbildung auf Agar Stäbchen mit Sporen ganz gewöhnlicher Art.

Resumieren wir jetzt das ganze Material aus den Versuchen in unseren vier Mitteilungen, in welchen in jeder einzelnen Versuchsportion Mist und Harn zu einem Mikroorganismus teilnahm. Solche Versuche wurden 10 ausgeführt, mit 10 verschiedenen Bakterien, unter welchen 6 stäbchenförmige Arten waren, eine Art *Vibrio* und 3 Arten Kokkenformen. Alle diese Arten, mit Ausnahme von einer Kokkenform (No. 8), entwickelten sich im Mist und besaßen in mehr oder minder ausgeprägter Form die Fähigkeit, die organischen Substanzen des Mistes zu oxydieren, mit Ausnahme der oben genannten Kokkenform No. 8, die sich im Miste absolut nicht entwickelte. Mit der allerenergischsten Oxydationsfähigkeit begab er sich *B. pyocyaneus*, welcher im Laufe seiner einmonatlichen Vegetation im Miste 7,0386 g CO₂ entwickelte, durch die schwächsten Oxydationsfähigkeit zeichnete sich aus die Kokkenform No. 7, welche in derselben Zeit bloß 0,7350 g CO₂ lieferte, was einem Verhältnis wie von 1 : 10 zwischen den beiden genannten Formen entspricht. Ueberhaupt muß bemerkt werden, daß die Kokkenformen durch bedeutend schwächere Oxydationsfähigkeit im Vergleich zu den Bacillenformen sich auszeichneten. Der Verlauf der CO₂-Entwicklung war in allen Versuchen ein und derselbe, das Maximum derselben fiel auf das Anfangsstadium des Versuches; am meisten wurde erhalten während der ersten oder zweiten 5 Tage, hier und da in der dritten 5-tägigen Periode, aber nicht später, worauf die CO₂-Menge allmählich geringer wurde, bis sie nach Verlauf von 2 Monaten ihr Minimum erreichte oder wenigstens nahe an dasselbe herankam. Man sieht daraus, daß, wenn ein Mikroorganismus im Miste allein sich befindet, seine energischste Lebensthätigkeit auf den Anfang der Vegetationsperiode fällt; sie wird im Verlauf derselben allmählich schwächer, und man kann sagen, daß sie nach Verlauf von 2 Monaten fast ganz aufhört. Was nun die Ammoniakgärung im Miste betrifft, so waren von 6 Arten Bacillenformen 5 in stande, Ammoniakgärung hervorzurufen; die *Vibrio*-Form, ebenso wie alle 3 Kokkenformen, riefen keine Ammoniakgärung hervor. Auf diese Art erwiesen sich auch hier die Kokkenformen als unthätiges Element, und wenn wir zu allem Gesagten noch hinzufügen, daß in quantitativer Beziehung die Kokkenform im Pferdemist den Bacillenformen bedeutend nachsteht (aus den Resultaten unserer Analysen sieht man, daß auf 28 Bacillenformen bloß 3 Kokkenformen aus Pferdemist isoliert worden waren), so läßt sich daraus schließen, daß überhaupt die Rolle der zur Kokkenform gehörigen Mikroorganismen bei der Zerlegung des Mistes keine bedeutende ist und der Bacillenform in dieser Beziehung nicht einmal nahe

kommt. Aus den 5 Arten, die Ammoniakgärung im Miste hervorriefen, erwies sich am thätigsten der Mikroorganismus No. 2, welcher im Verlauf der 60-tägigen Versuchsdauer 36 mg NH_3 entwickelte, als der schwächste erwies sich in dieser Beziehung Mikroorganismus No. 1, welcher im Laufe derselben 60 Tage bloß 15 mg NH_3 freimachte, wobei das Verhältnis $1 : 2\frac{1}{2}$, hier bedeutend geringer ist, wie zwischen der höchsten und niedrigsten Zahl bei der CO_2 -Entwicklung. In Betreff des Verlaufes der NH_3 -Entwicklung, was seine Menge im Laufe der Zeit betrifft, muß man hinzufügen, daß der Verlauf nicht überall in gleicher Weise vor sich ging, indem Mikroorganismus No. 1, *B. pyocyaneus* und *B. indicus* in der zweiten Hälfte des Versuchs augenscheinlich mehr NH_3 entwickelte als im Anfang. Mikroorganismus No. 1 gab z. B. im ersten Monat überhaupt kein NH_3 , während im Laufe des zweiten Monats 15 mg erhalten wurden. Bei *B. pyocyaneus* und *B. indicus* wurde die NH_3 -Bestimmung nicht am Ende des ersten Monats ausgeführt, aber auf Grund der Beobachtung, in welcher Zeit die erste U-Röhre im Apparat ihre Farbe änderte, kommt man zu obengenannter Folgerung. So z. B. veränderte bei *B. pyocyaneus* die erste U-Röhre ihre Farbe zum ersten Mal nach 33 Tagen, das andere Mal, mit titrierter Schwefelsäure frisch gefällt, änderte sich die Farbe der letzteren schon nach 20 Tagen, bei *B. indicus* beobachtete man die Farbenänderung unter denselben Bedingungen wie oben zum ersten Mal nach 37 Tagen, das zweite Mal nach einer frischen Fällung mit Schwefelsäure schon nach 27 Tagen. Bei den Mikroorganismen No. 2 und 9 wurde im Gegenteil im ersten Monat mehr NH_3 ausgeschieden als im folgenden; so gab No. 2 im ersten Monat 22 mg NH_3 , im zweiten Monat 13 mg, No. 9 gab im ersten Monat 19 mg, im zweiten 10 mg. Wenn wir die angeführten Mikroorganismen untereinander vergleichen auf Grund der Zeitdauer, in welcher die erste Farbenänderung in der ersten U-Röhre beobachtet wurde, so trat diese Farbenänderung ein bei *B. indicus* nach 37 Tagen, bei *B. pyocyaneus* nach 33 Tagen, bei No. 2 nach 21 Tagen und No. 9 nach 14 Tagen. Diese Zahlen lassen vorläufig darauf schließen, daß die Individualität der Mikroorganismen in Betreff der NH_3 -Gärung im Miste nicht bloß in quantitativer Beziehung sich äußert, sondern auch die Art und Weise derselben beeinflußt, indem ihre Intensität in gewissen Zeiträumen stärker oder schwächer wird; als Resultat dieser Bedingungen erweisen sich die Schwankungen in der NH_3 -Entwicklung. Man soll übrigens nicht vergessen, daß bei dieser NH_3 -Entwicklung noch einem nicht unwesentlichen Faktor eine bedeutende Rolle zukommt. Dieser Faktor, nicht biologischen, sondern physikalisch-chemischen Charakters, besteht in der Dissociation des kohlensauren Ammoniums, welches schon im Miste unter dem Einflusse von Mikroorganismen gebildet wird. Dieser Dissociationsprozeß verläuft nach besonderen Gesetzen, von welchen auch der Lauf der NH_3 -Entwicklung aus dem Miste beeinflußt wird. Dieser letztere Umstand, in Gemeinschaft mit dem Prozeß der Ammoniakgärung, macht die Unter-

suchung über die NH_3 -Ausscheidung aus dem Miste noch schwieriger und komplizierter.

Noch einige Worte über das Aussehen der Mistportionen nach Beendigung der Versuche. Das Äußere der Versuchsportionen Mist entspricht sozusagen vollständig der Energie, mit welcher der betreffende Mikroorganismus seine Lebensthätigkeit äußerte. Bei den Versuchen, wo die stärkste CO_2 -Entwicklung stattgefunden hatte, war die Mistportion am meisten verändert. Der Feuchtigkeitsgrad konnte hier als besonders bequemes Kennzeichen für die CO_2 -Bildung dienen, je mehr CO_2 entwickelt worden war, um so feuchter erschien die Mistportion; ebenso die mehr oder minder starke Dunkelfärbung in Betreff der NH_3 -Entwicklung. In den Versuchen, wo NH_3 -Bildung stattgefunden hatte, erwies sich der Mist am dunkelsten gefärbt, während im Gegenteil bei Abwesenheit von NH_3 -Bildung, wenn auch bei sehr starker CO_2 -Entwicklung, die Dunkelfärbung bloß eine sehr geringe war, wobei überhaupt bemerkt werden muß, daß die äußere Form und, wenn man so sagen darf, die Struktur der untersuchten Mistportionen weit davon entfernt war, um aus derselben schließen zu können, daß die Zersetzung des Mistes bei unseren Versuchen bemerkbare Fortschritte gemacht hätte; eher könnte man sagen, daß derselbe sich im ersten Stadium der Zersetzung befand.

Weiter gehen wir über zur Beschreibung der folgenden Versuche. Tabelle II enthält zwei Versuche mit Mikroorganismus No. 4 und *B. indicus*, unter denselben Bedingungen ausgeführt wie die vorhergehenden, jedoch mit dem Unterschied, daß die Mistportion hier keinen Harn enthielt; anstatt 50 ccm Harn waren hier 50 ccm Wasser hinzugegeben. Die Resultate der Versuche waren folgende:

Tabelle II.

Versuch 4, begonnen am 4. Dezember 1897 mit Mikroorganismus No. 4		Versuch 5, begonnen am 2. Dezember 1897 mit <i>B. indicus</i>	
Datum der Wägungen	Menge des ausgeschiedenen CO_2 in g	Datum der Wägungen	Menge des ausgeschiedenen CO_2 in g
9. Dezember	0,7808	7. Dezember	0,8150
14. "	1,6920	12. "	1,4178
19. "	0,8812	17. "	0,6648
24. "	0,5834	22. "	0,3068
29. "	0,5398	27. "	0,2224
3. Januar	0,2956	1. Januar	0,1510
8. "	0,2878	6. "	0,2024
12. "	0,1790	11. "	0,1116
Während der 39 Tage des Versuches	5,2396	Während d. 39 Tage des Versuches	3,8918
Menge des ausgeschiedenen NH_3 in g, während 39 Tag.	0	Menge des ausgeschiedenen NH_3 in g, während 39 Tag.	0

Wie aus der Tabelle zu ersehen, fand in den angeführten Versuchen reine NH_3 -Entwicklung statt, mit anderen Worten, da

kein Harn anwesend war, so wurde auch kein NH_3 ausgeschieden. Beim Vergleich dieser mit den analogen Versuchen der Tabelle I, in welchen Harn enthalten war, beobachten wir, daß bei Gegenwart von Harn in ein und demselben Zeitraume mehr CO_2 ausgeschieden worden war, als bei den Versuchen ohne Harn. Stellen wir jetzt die Resultate zusammen aus allen unseren Abhandlungen, in Betreff der Versuche ohne Harn, ähnlich wie wir es ausgeführt haben mit unseren Versuchen, welche Harn enthielten. Solcher Versuche ohne Harn wurden im ganzen 6 ausgeführt, an jedem Versuche nahm ein Mikroorganismus, d. h. im ganzen in allen 6 Versuchen 6 Mikroorganismen teil; 5 derselben gehörten zur Bacillenform, eine Form war ein Vibrio. Nicht einer aus diesen Versuchen gab NH_3 , obgleich in 5 Versuchen NH_3 -bildende Mikroorganismen anwesend waren, während in den analogen Versuchen mit Harn NH_3 -Bildung stattgefunden hatte. Mit anderen Worten, unter den Bedingungen, bei welchen unsere Versuche ausgeführt wurden, d. h. auf der ersten Zersetzungstufe von frischem Pferdemist, unter der Einwirkung von aeroben Mikroorganismen, geschieht die Bildung von NH_3 ausschließlich auf Rechnung des Harns, während die festen Bestandteile des Mistes reinen NH_3 liefern. Beim Vergleich der ziffernmäßigen Resultate des entwickelten CO_2 aus Portionen mit Harn und ohne denselben erhalten wir folgende Zusammenstellungen: Die Mikroorganismen No. 3, 4 und *B. indicus* in den Versuchen ohne Harn gaben weniger CO_2 , als während desselben Zeitraumes in den Versuchen mit Harn. So gab z. B. der Mikroorganismus No. 3 beim Versuch mit Harn in 30 Tagen 3,873 g CO_2 , ohne Harn in demselben Zeitraume 2,5896 g, d. h. um 1,3 g weniger; No. 4 gab beim Versuch mit Harn in 39 Tagen 5,933 g, ohne Harn in derselben Zeit 5,2936 g CO_2 , d. h. um 0,6394 g weniger; *B. indicus* gab beim Versuch mit Harn in 35 Tagen 7,1176 g CO_2 , ohne Harn in derselben Zeit 3,8918 g, d. h. um 3,2258 g weniger. Es fragt sich nun, wodurch dieser Ueberschuß an CO_2 in den Versuchen, wo Harn beigemischt war, zu erklären wäre? Am einfachsten wäre es natürlich, diesen Ueberschuß auf Rechnung der ungleichen chemischen Zusammensetzung der zu vergleichenden Mistportionen zu stellen, die den ungleichmäßigen Verbrennungsgrad der organischen Substanzen aus dem Mistе zur Folge hatte; diese Voraussetzung erscheint aber zweifelhaft, schon aus dem Grunde, weil die Mistportionen gleichartige Bestandteile enthalten. Bei den Versuchen mit Mikroorganismus No. 4 ist der Unterschied in der CO_2 -Menge nicht besonders groß, und könnte durch die ungleiche chemische Zusammensetzung der Mistportion allein erklärt werden. Beim Mikroorganismus No. 3 dagegen, bei welchem der Unterschied 1,3 g erreicht, ist eine derartige Voraussetzung schon fast unmöglich, und noch weniger ist es der Fall im Versuch mit *B. indicus*, in welchem der Unterschied in der CO_2 -Menge schon ganz bedeutend wird. Der Ueberschuß an CO_2 in den Versuchen mit Harn muß als natürliche Folge der im Mistе vor sich gehenden NH_3 -Gärung aufgefaßt werden, wobei das auf Rechnung des Harns gebildete

kohlensaure Ammonium infolge eines Dissociationsprozesses CO_2 und NH_3 liefert. Allein mit Hilfe dieses Vorganges kann nicht die Entstehung des ganzen Ueberschusses an CO_2 erklärt werden, da, nach den kleinen Mengen des ausgeschiedenen NH_3 , zu urteilen, die Bildung von kohlensaurem Ammonium im Mist nicht besonders groß war und deshalb kaum imstande sein konnte, eine so bedeutende Menge CO_2 zu liefern, um den erhaltenen Ueberschuß derselben zu erklären. In Betreff des Versuches mit Mikroorganismus No. 3 ist eine derartige Voraussetzung sogar überhaupt unmöglich, da er überhaupt nicht imstande ist, NH_3 -Gärung hervorzurufen, weil bei seiner Vegetation im Mist mit Zugabe von Harn keine NH_3 -Entwicklung stattfindet. Man könnte voraussetzen, daß er überhaupt nicht fähig ist, den Harn zu zersetzen, währenddem wurde aber im Versuch mit Harn mehr CO_2 ausgeschieden, als im Versuch ohne Harn. Wir müssen hier bemerken, daß der Mikroorganismus No. 3 in sterilisiertem Harn sich sehr schwach entwickelt, bloß der Harn trübt sich leicht als einziges äußeres Kennzeichen der in ihm vor sich gehenden Veränderungen. Auf Grund der angeführten Versuche drängt sich nun die Frage auf, ob der Harn außer seiner Fähigkeit zur NH_3 -Gärung nicht noch einen indirekten Einfluß auf den geschilderten Prozeß ausübt, darin bestehend, daß die oxydierende Thätigkeit der Mikroorganismen auf die festen Bestandteile des Mistes erhöht wird. Zu ganz entgegengesetzten Folgerungen kommen wir beim Vergleich der Versuche mit Mikroorganismus No. 1; derselbe gab im Gegenteil mehr CO_2 im Mist ohne Harn als bei Gegenwart des letzteren; es wurde nämlich in der Mistportion ohne Harn 5,2124 g CO_2 , während bei Gegenwart von Harn 3,6520 g CO_2 erhalten wurden, mit anderen Worten, in diesem Falle erwies sich der Harn als störendes Element in der Vegetation des Mikroorganismus No. 1. Wie dem auch sei, so zeigen uns doch die Resultate der angeführten Versuche, daß die Mikroorganismen No. 1, 3, 4 und *B. indicus* imstande sind, die organischen Substanzen aus den festen Bestandteilen des Mistes zu oxydieren und daß die Hauptmenge des aus dem Miste sich ausscheidenden CO_2 eben aus den festen Bestandteilen des Mistes hervorgeht. Die Intensität, mit welcher die oxydierende Thätigkeit der betreffenden Mikroorganismen im Miste ohne Harn vor sich geht, ist dieselbe, wie bei den Versuchen mit Harn, d. h. das Maximum der CO_2 -Entwicklung wird beobachtet bei der 2. oder 3. Wägung, hier und da auch schon bei der ersten (nach 5—15 Tagen), später sinkt die CO_2 -Menge nach und nach. Dieses trifft zu beim Vergleich der Versuche mit den Mikroorganismen No. 1, 3, 4 und *B. indicus*. In Betreff der beiden übrigen Mikroorganismen, No. 2 und *B. pyocyaneus*, mit welchen ebenfalls die Versuche mit und ohne Beigabe von Harn ausgeführt wurden, wurden die nötigen Zusammenstellungen schon in unserer 3. Abhandlung angeführt; hier wollen wir nur mit einigen Worten die Resultate dieser Zusammenstellungen anführen. Thatsache war es, daß im Miste ohne Harn der Mikroorganismus No. 2 absolut nicht vegetierte, und aus dem Grunde natürlich auch

keine Oxydationsprodukte liefern konnte; ganz dasselbe war der Fall mit *B. pyocyaneus*, der ebenfalls im Miste ohne Harn keine fermentative Thätigkeit äußerte, während im Miste mit Beigabe von Harn der Mikroorganismus No. 2 im Laufe von 62 Tagen 5,926 g CO₂ und 36,5 mg NH₃ lieferte und *B. pyocyaneus* in 65 Tagen bei Gegenwart von Harn 8,2961 g CO₂ und 24,5 mg NH₃ frei machte. Wir bemerkten damals, daß man in dieser Zusammenstellung einen Hinweis darauf hätte, daß infolge der vollständigen Unthätigkeit der Mikroorganismen im Miste ohne Harn und ihrer energischen Lebensthätigkeit bei Gegenwart von Harn, die im letzten Falle ausgeschiedenen Gase CO₂ und NH₃ ausschließlich aus dem Harn ihren Ursprung haben mußten. Dieses letztere kann aber auf keinen Fall zugegeben werden aus dem Grunde, weil bei so großen Mengen CO₂, wie sie bei den Versuchen mit Harn erhalten wurden, im Harn nicht genügend Kohlenstoff vorhanden wäre, sogar wenn wir annehmen, daß alle 50 ccm Harn, die in der Versuchsportion vorhanden waren, zu diesem Zweck ihren ganzen Kohlenstoff hergegeben hätten; an der Bildung der angegebenen Menge CO₂ mußten auch die festen Bestandteile des Mistes teilgenommen haben. Folglich auch hier, im Mist mit Harn, oxydieren der *B. pyocyaneus* und der Mikroorganismus No. 2 die organischen Substanzen der festen Bestandteile des Mistes mit dem Unterschiede von den 4 oben behandelten Mikroorganismen, daß die 2 letztgenannten Mikroorganismen zu ihrer erfolgreichen Lebensthätigkeit im Miste unbedingt die Gegenwart von Harn erfordern, da ohne den letzteren im Miste sie in diesem Substrat sich überhaupt nicht lebensfähig erweisen, während die 4 ersteren Mikroorganismen auch bei Abwesenheit von Harn imstande sind, die festen Bestandteile des Mistes zu oxydieren. Auf diese Art bestätigen auch die zuletzt angeführten Versuche mit Mikroorganismus No. 2 und *B. pyocyaneus* unsere oben angeführte Voraussetzung, daß bei der Gärung des Mistes der Harn nicht bloß ein Objekt darstellt, an welchem die Mikroorganismen der Harn gärung ihre Lebensthätigkeit äußern, sondern daß die Rolle desselben eine viel kompliziertere ist. Dank seiner Anwesenheit wird die Oxydationsthätigkeit einiger Mikroorganismen in Betreff der festen Bestandteile des Mistes erhöht, für andere Mikroorganismen ist seine Gegenwart geradezu notwendig, da in Abwesenheit von Harn dieselben überhaupt nicht imstande sind, im Mist zu existieren. Andererseits aber beweist der Versuch mit Mikroorganismus No. 1 den ungünstigen Einfluß des Harns, da in seiner Gegenwart die fermentative Wirkung des Mikroorganismus No. 1 geschwächt erschien.

Zum Schluß wollen wir noch einen Versuch anführen, welcher speziell zu dem Zweck angestellt wurde, um zu entscheiden, mit welcher Energie die Lebensthätigkeit von aëroben Mikroorganismen im Mist vor sich geht in dem Falle, wenn eine gewisse Anzahl von Arten in den Mist gelangt, aber nicht gleichzeitig, sondern einzeln in einer gewissen Reihenfolge, einer nach dem anderen. Dabei wurde vorausgesetzt, daß die vorhergehende Art schon ge-

nügende Zeit im Mist vegetiert hatte, d. h. so, daß, nach der Menge des ausgeschiedenen CO_2 zu urteilen, ihre Lebensthätigkeit schon zu Ende neigte. Wir wollen hierbei erinnern, daß schon früher in unserer 2. Abhandlung einige vorläufige Versuche in dieser Beziehung beschrieben wurden, so z. B. im 5. Versuche der 2. Abhandlung, welcher von neuem in vorliegender Arbeit angeführt wurde, vegetierte anfangs der Mikroorganismus No. 4, worauf gegen Ende des Versuches, am 13. Januar, zu derselben Mistportion von neuem derselbe Mikroorganismus No. 4 eingepflegt und am 18. Januar noch der Mikroorganismus No. 1 zugegeben wurde. Wie aus den Resultaten des Versuches zu ersehen ist, wurde der Oxydationsprozeß durch diese Impfungen nicht intensiver, und die Menge des sich ausscheidenden CO_2 fiel fortwährend. In derselben 2. Abhandlung wird noch ein derartiger Versuch angeführt: Im Versuch No. 6 vegetierte von Anfang an der Mikroorganismus No. 5, zum Schluß seiner Vegetationsperiode wurde zu derselben Mistportion noch der Mikroorganismus No. 1 hinzugegeben; auch hier wurde der Oxydationsprozeß dadurch nicht verstärkt. Darauf wurde nach Verlauf von 20 Tagen noch der Mikroorganismus No. 3 hinzugegeben; nach dieser Impfung stieg der Oxydationsprozeß merklich, die Menge der ausgeschiedenen CO_2 blieb aber hinter der zurück, welche erhalten wurde, als derselbe Mikroorganismus No. 3 als erster den Oxydationsprozeß begann, in einer frischen Mistportion, ohne vorhergehende Anwesenheit in derselben eines anderen Mikroorganismus.

Der weiter unten angeführte Versuch wurde auf gewöhnliche Art angestellt, d. h. der Mist mit Harn gemischt und bei 30° ein Luftstrom über die Oberfläche desselben gezogen. Der Versuch begann am 13. September 1895, wo der sterilisierten Mistportion gleichzeitig 2 Mikroorganismen, nämlich No. 1 und 3, eingepflegt wurden. Die folgenden Impfungen wurden in folgender Reihenfolge ausgeführt: Am 13. Oktober wurden zum 2. Male dieselben Mikroorganismen No. 1 und 3 hinzugegeben, am 22. Oktober der Mikroorganismus No. 2, am 30. Oktober No. 2 von neuem, am 3. November Mikroorganismus No. 4, am 29. November Mikroorganismus No. 5, am 9. Dezember *B. indicus*, am 23. Januar wurde ein stäbchenförmiger Mikroorganismus, der Gelatine verflüssigte, hinzugegeben, am 7. Februar noch eine stäbchenförmige Form, die ebenfalls Gelatine verflüssigte (die beiden letzteren Formen waren ebenfalls in Reinkulturen aus dem Mist isoliert worden), am 8. März wurde eine Reinkultur von obergäriger Hefe hinzugefügt, am 13. März von neuem die beiden ersten Kulturen, nämlich No. 1 und 3. Am 20. März wurde der Versuch zeitweilig unterbrochen, das Glasgefäß, welches die Kulturen enthielt, geöffnet, das äußere Aussehen der Mistportion notiert, wobei dieselbe nicht aus dem Glase genommen wurde, schließlich in demselben Glase sterilisiert, wie gewöhnlich im Autoklaven, und von neuem in den Apparat eingeführt zur Fortsetzung des Versuches. Nach dieser zweiten Sterilisation bekam die Mistportion abermals die Mikroorganismen No. 1 und 3 zugepflegt, während weitere Impfungen

nicht gemacht und der Versuch am 9. April abgebrochen wurde. Die folgende Tabelle enthält die zahlenmäßigen Resultate des Versuches:

Tabelle III.

Versuch 6, begonnen am 13. September 1895					
Datum der Wägungen	Menge d. ausgeschiedenen CO ₂ in g	Datum der Wägungen	Menge d. ausgeschiedenen CO ₂ in g	Datum der Wägungen	Menge d. ausgeschiedenen CO ₂ in g
18. Septemb.	1,473	4. Dezemb.	0,1423	3. März	0,0846
23. "	2,044	9. "	0,0670	8. "	0,0634
28. "	1,175	14. "	0,187	13. "	0,0716
3. Oktober	0,719	19. "	0,1420	18. "	0,0778
8. "	0,425	24. "	0,0562	20. "	0,0260
13. "	0,237	29. "	0,0416	25. "	0,0410
in 30 Tagen	6,073	3. Januar	0,1754	30. "	0,3732
18. Oktober	0,231	8. "	0,2223	4. April	0,2738
22. "	0,196	13. "	0,1638	9. "	0,0898
26. "	0,148	18. "	0,1042	Während des ganzen Versuches	11,7907
30. "	0,144	23. "	0,1152	Menge d. ausgeschiedenen NH ₃ währ. d. ganz. Versuches	0,0424
3. Novemb.	0,154	28. "	0,1226		
8. "	0,499	2. Februar	0,0968		
13. "	0,390	7. "	0,0890		
18. "	0,231	12. "	0,1072		
23. "	0,168	17. "	0,1094		
29. "	0,2187	22. "	0,056		
		27. "	0,0788		

Vor allen Dingen betrachten wir im vorliegenden Versuch die Menge CO₂, welche in den ersten 30 Tagen vom 13. September bis zum 13. Oktober ausgeschieden wurde, d. h. während die Versuchsportion Mist bloß die zwei Mikroorganismen enthielt, welche am Anfang des Versuches der Mistportion zugegeben worden waren, nämlich die Mikroorganismen No. 1 und No. 3. Wir thun es zu dem Zwecke, um die Lebensthätigkeit der genannten 2 Mikroorganismen im Mist, welcher Harn enthielt, zu vergleichen mit ihrer Vegetation in einem analogen Versuch, welcher in unserer 3. Abhandlung unter No. 5 beschrieben wurde und in welchem dieselben Mikroorganismen in einer Mistportion ohne Harn vegetierten. Aus dieser Zusammenstellung sieht man, daß die Menge CO₂, welche in ein und demselben Zeitraum ausgeschieden war (30 resp. 31 Tage), beim Versuch mit Harn 6,073 g betrug, während aus Mist ohne Harn 5,5786 g erhalten wurden, also im ersten Fall um 0,4944 g mehr als im zweiten. Aus unseren Versuchen mit Harn und ohne denselben für die Mikroorganismen No. 1 und No. 3, wo sie einzeln vegetierten, hätte man den Schluß ziehen können, daß die Resultate im letzten Fall andere, den früheren entgegengesetzte seien, d. h. der letzte Versuch mit Harn hätte weniger CO₂ geben müssen, als ohne Zugabe von Harn und beim gemeinschaftlichen Vegetieren der genannten Mikroorganismen No. 1 und No. 3. In Wirklichkeit haben wir aber schon früher gesehen, daß der Mikroorganismus No. 3 im Versuche mit Harn um 1,283 g CO₂ mehr entwickelte, als beim Versuche ohne Harn,

während der Mikroorganismus No. 1 im Gegenteil mit Harn um 1,5604 g CO₂ weniger lieferte, als im Versuche ohne Harn; der Unterschied zwischen diesen beiden Ziffern beträgt also 0,2770. Bei der theoretischen Berechnung, wieviel CO₂ man erhalten müßte im Versuche mit Harn bei gemeinschaftlicher Vegetation der Mikroorganismen No. 1 und No. 3, in Betracht der Thatsache, daß im analogen Versuche ohne Harn 5,5786 g CO₂ entwickelt wurden, von dieser Ziffer 0,2770 subtrahieren, da im Versuche mit Harn der Mikroorganismus No. 3 die CO₂-Menge um 1,283 g vermehrt, während zu gleicher Zeit der Mikroorganismus No. 1 diese Menge um 1,5604 g vermindert, müssen wir schließlich beim Versuche mit Harn CO₂ um soviel weniger erhalten, wie der Unterschied zwischen den beiden Ziffern beträgt, d. h. um 0,2770 g, in welchem Fall die Menge des ausgeschiedenen CO₂ im letzten Versuche mit Harn 5,3016 g hätte betragen müssen; in Wirklichkeit wurden aber 6,073 g CO₂ erhalten. Wenn wir die Differenz zwischen diesen Mengen CO₂, d. h. 0,7714 g für genügend groß halten, so kann sie als Beweis dienen dafür, daß bei gemeinschaftlicher Vegetation der Mikroorganismen No. 1 und No. 3 ihr Verhalten zum Mist ohne Harn und mit Beigabe desselben ein anderes ist, als im isolierten Zustande. Im Miste mit Harn geben beide Mikroorganismen, bei gemeinschaftlicher Vegetation, nicht ein geringeres Quantum CO₂, wie man es auf Grund obiger Betrachtungen hätte erwarten können, sondern sie liefern im Gegenteil mehr CO₂. Es entsteht nun dieses Plus an CO₂ bei der gemeinschaftlichen Vegetation in Folge davon, daß das negative Verhalten des Mikroorganismus No. 1 zum Miste mit Harn in gewissem Maße paralytisch wird, ob infolge einer noch mehr intensiven Thätigkeit des Mikroorganismus No. 3, oder schließlich als Resultat der gemeinschaftlichen Einwirkung der beiden genannten Faktoren, läßt sich vorläufig noch schwer bestimmen; Thatsache ist es aber, daß als Resultat der gemeinschaftlichen Thätigkeit der beiden Mikroorganismen im Miste mit Harn mehr CO₂ entwickelt wird als ohne Harn. Wenn wir ferner die Menge des im letzten Versuche im Laufe von 30 Tagen ausgeschiedenen CO₂ vergleichen mit der Summe, welche erhalten wird beim Addieren der CO₂-Mengen, die bei der Einzelvegetation der genannten Mikroorganismen bei Gegenwart von Harn ausgeschieden werden, so gelangen wir wiederum zu denselben Schlußfolgerungen, die wir schon früher bei analogen Vergleichen von Versuchen mit und ohne Harn gemacht haben, nämlich, daß bei der gemeinschaftlichen Vegetation der Mikroorganismen die Menge des ausgeschiedenen CO₂ geringer ist, als die Summe aus den CO₂-Mengen, welche durch dieselben Mikroorganismen, in demselben Zeitraum, aber bei isolierter Vegetation im Miste ausgeschieden werden. Im gegebenen Fall wurden bei gemeinschaftlicher Vegetation der Mikroorganismen im Laufe von 30 Tagen 6,074 CO₂ ausgeschieden, während dieselben Mikroorganismen im isolierten Zustande im Miste mit Harn zusammen 7,525 g, d. h. um 1,5 g mehr CO₂ lieferten, als im ersten Fall. Was die Intensität der CO₂-Ausscheidung in den beiden Versuchen, No. 6 in vorliegender und

No. 5 in unserer dritten Abhandlung betrifft, so fällt das Maximum derselben auf die 2. Periode von 5 Tagen, worauf die CO_2 -Menge allmählich fällt. Einen auffallenden Unterschied beobachtet man für die ersten 5 Tage, während welcher im Versuche ohne Harn bedeutend weniger CO_2 entwickelt wurde, als beim Versuche mit Harn. NH_3 wurde in unserem Versuche No. 6 während der ersten 30 Tagen fast gar nicht gebildet (ein Titrierungsversuch am 22. Okt. zeigte einen Zuwachs von NH_3 im ganzen bloß an 0,004 mg), was leicht verständlich ist, da der Mikroorganismus No. 3 überhaupt keine Ammoniakgärung im Harn hervorruft und der Mikroorganismus No. 1, wenn auch geringe Mengen NH_3 zu liefern imstande ist, aber bloß im 2. Monat des Versuches.

Bei weiterer Betrachtung des letzten Versuches ist aus den Ziffern für CO_2 unschwer zu ersehen, daß nicht eine der Kulturen, welche nach der Vegetation von No. 1 und No. 3 zum Miste hinzugegeben wurde, irgendwelche oxydierende Wirkung auf denselben äußerte. Nach der zweiten Einimpfung von No. 1 und No. 3 am 13. Oktober folgte eine weitere Verminderung von CO_2 -Entwicklung, dasselbe wurde beobachtet nach Hinzugabe von Mikroorganismus No. 2 (am 30. Oktober) und bloß nach dem Einimpfen von Mikroorganismus No. 4 am 3. November bemerkt man einen geringen Zuwachs an CO_2 , obgleich dieser Zuwachs durchaus nicht der Energie entspricht, mit welcher derselbe Mikroorganismus No. 4 CO_2 entwickelt, wenn er allein im Miste vegetiert, wie in Versuch 1 nachgewiesen wurde. Die nächste Impfung von Mikroorganismus No. 5 am 29. November war von einer weiteren Verminderung der CO_2 -Entwicklung begleitet; nach dem 9. Dezember, wo in den Mist *B. indicus* gebracht wurde, beobachtet man abermals eine geringe Zunahme an CO_2 -Entwicklung, wenn auch eine sehr schwache und ebenfalls weit entfernt von der Energie, mit welcher er seine Thätigkeit äußert, wenn er allein im Miste sich befindet (Versuch 2). An diesem Ort haben wir die Beobachtung einzuschreiben, daß bis zum 23. Januar nach dem *Bacillus indicus* keine neuen Impfungen stattfanden, wobei trotzdem am 29. Dezember, wo der Einfluß des *B. indicus* fast nicht mehr zu bemerken war, da die Mengen entwickelter CO_2 bis auf Centigramme gesunken war, was auf eine beinahe vollständige Sistierung des Fermentationsprozesses schließen läßt, die Menge der CO_2 am 3. Januar plötzlich wiederum auf 0,17 g anstieg und bis zum 8. Januar schon 0,22 g überschritt, worauf wiederum ein Sinken derselben erfolgte. Durch welche Ursachen dieser kleine Anstieg der fermentativen Thätigkeit hervorgerufen wurde, läßt sich schwer sagen. Die nächstfolgenden Impfungen, am 23. Januar und am 7. Februar, von 2 stäbchenförmigen Mikroorganismen, von welchen der eine oben als No. 9 beschrieben wurde, brachten keine Wirkung auf die CO_2 -Entwicklung hervor, ebenso blieben erfolglos die am 8. März hinzugegebenen Hefepilze und am 13. März abermals eingepflichten Mikroorganismen No. 1 und No. 3. Am 20. März erfolgte, wie schon oben bemerkt wurde, eine neue Sterilisation der Mistprobe, worauf noch einmal die beiden Mikroorganismen No. 1 und No. 3 hinzugegeben wurden.

Als Resultat dieser neuen Impfung erfolgte abermals der Fermentationsprozeß, aber in sehr geringem Grade, weit entfernt von der Intensität, mit welcher dieselben 2 Mikroorganismen ihre oxydierende Thätigkeit begannen am Anfange des Versuches.

Aus allem oben Angeführten ersieht man, daß, nachdem die Mikroorganismen No. 1 und No. 3 im Harn vegetiert haben, wobei ihre Lebensthätigkeit durch eine energische CO_2 -Entwicklung begleitet wurde, alle folgenden Mikroorganismen, die zu derselben Mistportion hinzugegeben wurden, schon nicht mehr imstande waren, den Fermentationsprozeß der organischen Bestandteile des Mistes in bemerkbarer Weise zu fördern. Einige dieser Mikroorganismen erwiesen sich absolut unthätig, andere, wie z. B. No. 4 und *B. indicus*, zeigten wohl einige fermentative Thätigkeit, aber bei weitem nicht mit der Intensität, zu welcher sie fähig sind, wenn sie ihre Thätigkeit beginnen im Miste, in welchem vorher keine anderen Mikroorganismen vegetiert hatten. Mit einem Worte, schon vom 13. Oktober an, d. h. nach Verlauf eines Monats nach Beginn des Versuches, war die fermentative Thätigkeit im Miste fast kaum bemerkbar, während am 7. Februar sie schon vollständig stillstand. Hierin liegt die Ursache, daß in einem so langen Zeitraume von 7 Monaten, durch welchen sich der Versuch hinzog, im Ganzen 11,7907 g CO_2 ausgeschieden wurden, während der *B. indicus* z. B., wo er allein im Miste vegetierte, in 2 Monaten um ein geringes weniger, nämlich 8,2173 g CO_2 lieferte. Derartig ist die deprimierende Wirkung der vorhergehenden Vegetation von Mikroorganismen im Miste, wenn auch bloß einiger weniger Arten, auf die Lebensthätigkeit der ganzen Reihe von folgenden bakteriellen Arten, die in dieselbe Mistportion hineingeraten. Dieser Versuch bestätigt, wie man sieht, vollständig das, was wir in unserer zweiten Abhandlung in 2 Thesen aufgestellt haben: 1) Nach der Vegetation einer oder mehrerer aëroben bakteriellen Arten im Miste während beliebig langer Zeit zeigen nicht alle anderen aëroben Arten, die im Allgemeinen die Fähigkeit besitzen, die organischen Substanzen des Mistes zu oxydieren, hier diese Fähigkeit; einige unter ihnen setzen den Oxydationsprozeß fort, andere nicht; 2) wenn der betreffende Mikroorganismus seine Oxydationsthätigkeit auch fortsetzt, so thut er es bei weitem nicht mit der Energie, mit welcher er die organischen Substanzen des Mistes oxydiert, wenn er den Oxydationsprozeß selber beginnt. Die Ursache dieser Erscheinung ist ohne Zweifel zu suchen in der Ansammlung von Produkten der Lebensthätigkeit der vorhergehenden Bakterien, welche mit mehr oder weniger Intensität auf die Entwicklung der folgenden Arten einwirken, diese wirken deprimierend. Dieser letztere Umstand bewog uns auch zur zweiten Sterilisation der Versuchsportion des Mistes im letzten Versuche, in der Hoffnung, dadurch uns unbekannte Produkte der Lebensthätigkeit der Bakterienzelle zu zerstören und auf diese Art von neuem ein günstiges Feld für die Oxydationsthätigkeit der folgenden Generationen von Mikroorganismen zu schaffen. Diese Voraussetzung erfüllte sich auch einigermaßen, aber wie aus dem Versuche zu ersehen ist,

bloß in sehr geringem Grade: Am 13. März wurden die Mikroorganismen No. 1 und No. 3 eingimpft, die aber keine Wirkung mehr hervorriefen, da zum 20. März das CO_2 -Quantum bis auf Spuren herunterging, nämlich auf 0,0260 g. Nach dem 20. März aber, als der Mist sterilisiert und die Mikroorganismen No. 1 und No. 3 von neuem hinzugegeben worden waren, stieg die CO_2 -Menge in den ersten 10 Tagen merklich und erreichte 0,37 g, in den nächsten 5 Tagen betrug sie noch 0,27 g, fiel aber in der darauf folgenden fünftägigen Periode bis auf einige Centigramme. Die zweite Sterilisation des Mistes begünstigte also das Auftreten der Oxydationsthätigkeit der Mikroorganismen No. 1 und No. 3, wenn auch nur in geringem Grade, welcher durchaus nicht der Energie entsprach, mit welcher dieselben in frischem Substrate auftreten.

Es läßt sich unschwer voraussetzen, daß bei natürlichen Verhältnissen im Mistе dieselbe Erscheinung vor sich geht, nämlich, daß der Oxydationsprozeß am lebhaftesten vor sich geht in vollkommen frischem Mistе in den ersten Stadien seiner Zersetzung, wo dieser Prozeß vollständig abhängt von der gemeinschaftlichen, summarischen Thätigkeit bloß der Aëroben, welche sich schon am Anfang des Zersetzungsprozesses in ihm befanden. Alle übrigen aëroben Arten, welche auf die eine oder andere Art später in den Mist hineingeraten, auch die mit einer höchst energischen Oxydationsfähigkeit begabten, werden zum Teil oder vollständig unthätig bleiben, oder ihr Einfluß auf den Verbrennungsprozeß wird bedeutend reduziert werden. Bei ungestörten aëroben Verhältnissen im Mistе werden diese Mikroorganismen einen höchst langsamen Oxydationsprozeß weiterschleppen und von der Rückkehr zur lebhaften Oxydationswirkung kann nicht mehr die Rede sein, was für Arten von neuen aëroben Mikroorganismen auch noch hinzukommen mögen. Für fernere Stadien einer mehr oder weniger tiefen Zersetzung des Mistes muß auf die Einmischung von Anaëroben auf verschiedenen Stufen der Anaërobiose gewartet werden, das letztere aber ist abhängig von der Schwächung der aëroben Verhältnisse, was aber bloß durch verschiedene äußere Umstände geschehen kann, wie z. B. durch Zudeckung der betreffenden Schicht durch eine frische Lage Mist oder durch bedeutende Ansammlung von CO_2 im Mistе, welche an und für sich schon anaërobe Verhältnisse schaffen kann, u. dergl. mehr.

Zum Schlusse haben wir noch einige Worte hinzuzufügen über die NH_3 -Ausscheidung in unserem letzten Versuche und über das äußere Aussehen des Mistes nach Beendigung des Versuches. Die erste Titrierung wurde am 22. Okt. ausgeführt, wobei sich erwies, daß bloß 0,004 g NH_3 ausgeschieden waren; die zweite Titrierung geschah am 7. Febr. und ergab 0,0197 g NH_3 , die letzte Titrierung am 20. März zeigte 0,01872 g; im ganzen waren während 7 Monate ausgeschieden 0,0424 g NH_3 . Beim Vergleiche dieser Zahl mit der Summe von NH_3 , welche erhalten wird durch Addieren der Mengen von NH_3 , welche von allen betreffenden Mikroorganismen, die am Versuche

teilnahmen, im einzelnen ausgeschieden wurde, so wird die erstere bedeutend geringer erscheinen, da ja der Mikroorganismus No. 2 allein in 2 Monaten, die er im Miste verbrachte, schon 0,0365 g NH_3 lieferte, also um ein geringes weniger, als im letzten Versuche im Verlauf von 7 Monaten. Auf diese Art zeigt auch die NH_3 -Entwicklung, inwieweit die Thätigkeit der Mikroorganismen im 7. Versuche deprimiert war, obgleich die CO_2 -Menge in dieser Beziehung als bedeutend schärferer Beweis dienen kann. Die NH_3 -Ausscheidung war in der zweiten Hälfte des Versuches energischer, wie in der ersten Hälfte, insoweit man darüber urteilen kann auf Grund der Entfärbung der ersten, mit titrierter Schwefelsäure gefüllten U-Röhre. Diese entfärbte sich zum erstenmal nach Verlauf von 4 Monaten nach Beginn des Versuches; zum zweitenmal entfärbte sie sich bedeutend schneller, nämlich nach Verlauf von 27 Tagen, und zum drittenmal schon nach 24 Tagen. Was nun das Aeußere des Mistes betrifft, so hatte sich dasselbe am Ende des Versuches bedeutend verändert, es zeigte Ammoniakgeruch, war feucht und stark dunkel geworden (ebenfalls bemerkbar nachgedunkelt war das Stroh), stellenweise beinahe schwarz. Die Struktur der Mistportion hatte sich wenig geändert, nach ihr zu urteilen, konnte man auf eine mehr oder weniger tiefgehende Zersetzung des Mistes nicht schließen.

Nachdruck verboten.

On the value of plating as a means of determining the number of Bacteria in drinking water.

By Walter C. C. Pakes, D.P.H. (Camb.).

Grocers' research scholar, London.

It is well known that in the hands of different bacteriologists the same sample of water will give discordant numerical results in culture. Certain conditions influence the development of the colonies upon gelatin plates: the alkalinity of the medium¹⁾, the amount of peptone and salt present²⁾, the temperature of incubation, the time of growth, and the number of liquefying organisms present.

Being anxious to determine if possible, the flora of the water from a certain well I began a series of experiments with a view of establishing what was the influence of the ingredients of nutrient gelatin upon the development of the colonies. The first experiments were made to determine if any difference could be discovered between Fleischwasser (meat infusion) made with distilled water, and that made with ordinary tap water. The latter in my laboratory is supplied by the Southwark and Vauxhall Company and is drawn from the upper reaches of the Thames. Although all the

1) Reinsch, *Centralbl. f. Bakt.* Bd. X. p. 415.

2) Sedgwick and Prescott, *Reports and papers of the American. Pub. Health Assoc.* Vol. X. p. 450.

other experimental conditions were identical, the results were most unsatisfactory. Some samples of water gave higher results upon ordinary gelatin, and others upon the gelatin prepared with distilled water. The next step was to omit the peptone from the gelatin made from distilled water; and upon making control experiments it was found that the gelatin made without peptone contained fewer colonies than that made with peptone. When the conditions were reversed, peptone being added and the Fleischwasser omitted there was a marked increase in the number of colonies. In order to institute a further comparison, gelatin was made which contained neither Fleischwasser nor peptone. The medium was made by dissolving the gelatin in distilled water and neutralising (nearly all samples of dried gelatin are slightly acid) with $\frac{n}{1}$ NaOH or with $\frac{n}{1}$ Na₂CO₃. This will be referred to as "D" gelatin. Dry gelatin is not ash-free but contains traces of salts as well as free acid. I am convinced, however, that the influence of very slight variation in the constitution of different gelatins has been quite a negligible factor in the results obtained.

The following table illustrates the effect of the gelatin (each of the kinds of gelatin had exactly the same degree of alkalinity).

Table I.
Number of colonies which developed upon gelatin plates when inoculated with different samples of water.

	Ordinary gelatin.	"D" Gelatin	Distilled-water Fleischwasser Gelatin.
1	105	99	77
2	824	1018	121
3	3504	4192	1544
4	112	174	62
5	—	384	98
6	—	73	40
7	—	33	33
8	—	444	494

Pohl's¹⁾ experiments, adding Ammonia to the nutrient gelatin in order to study marshy water and his success therewith, suggested that the mineral constituents of any water might have a profound influence upon the flora of that water, and the further fact that certain bacteria are common in water from certain sources and rarely found in that from other sources suggested that the gelatin should be made with these waters.

Gelatin was therefore dissolved in water from various sources, and sufficient alkali added to bring the gelatin to the alkalinity of the original water, or to make it neutral. Both experiments being tried.

1) Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. Bd. XI. p. 141.

"A" Gelatin was made by dissolving 10% of dry gelatin in water from the Southwark and Vauxhall Water Company's mains.

"B" Gelatin was made in a similar way with water from the gravel and sand above the London clay.

"C" Gelatin was made with chalk water from beneath the London clay.

"E" Gelatin was made with water from the magnesian limestone. "C" water was inoculated at different times into the various kinds of gelatin and poured into plates with the following results:

Table II.
Number of colonies appearing on gelatin plates.

	Ordinary Gelatin	"A" Gelatin	"B" Gelatin	"C" Gelatin	"D" Gelatin
1	584	366	726	1608	798
2	94	51	92	203	96
3	190	399	258	529	291
4	207	229	178	257	229
5	104	125	128	202	75

From this table it will be seen that in every case the number of colonies on the "C" gelatin plates was in excess of that on any of the other plates, the difference being sometimes very considerable.

The following table shows the results obtained with samples of water from very various sources upon these samples of gelatin.

Table III.
Colonies per c. c. found on plates.

Source	Geln.	"A" Geln.	"B" Geln.	"C" Geln.	"D" Geln.	"E" Geln.
Chalk well	1	35	—	14	—	31
Bunter sandstone	2	144	716	—	948	857
Subsoil water in sand	3	1504	1796	805	1972	1764
Chalk well	4	390	604	528	866	1212
Chalk well	5	468	333	1838	3344	2288
Deep chalk well	6	109	40	135	146	163
id. (7 days later)	7	110	123	171	148	135
H ₂ S spring	8	10	101	35	79	69
Bunter sandstone	9	80	255	228	161	227
Subsoil well	10	105	41	62	58	39
Chalk well	11	8320	428	—	202	232
Deep chalk well	12	1	8	2	5	11
id.	13	12	43	16	—	10
Subsoil well	14	824	605	—	2424	1018
Filtered river water	15	3504	896	—	6944	4192
id.	16	111	72	—	466	174

The influence of the "E" Gelatin is well exemplified in the following table which shews the number of colonies found per c. c.

in some "C" water which had been kept at 13° C for two or three weeks.

Table IV.

Geln.	"A"	"B"	"C"	"D"	"E"
18,700	8,200	—	15,700	25,200	3,000
17,400	15,400	20,500	14,900	13,700	500
28,800	26,060	28,320	27,520	20,160	1,160

The analysis of Table III gives the following results:

The gelatin gave the greatest number of colonies on three occasions. "A" gelatin gave most colonies twice. "B" once. "C" seven times. "D" once, and "E" twice.

The number of colonies which appear upon ordinary gelatin may not in the least represent the number of bacteria present in the water; even on "C" gelatin which gave the greatest number the most often, it may happen that only a small proportion of those present will grow; No 14 shewed 8320 colonies upon gelatin plates and only 202 upon "C" gelatin.

The next question to be answered is why does one get such very discordant results?

In any sample of water there may be the true water bacteria, and certain extraneous kinds (some possibly of excremental origin). It is probable that almost every stratum has its own particular flora, the particular kinds depending upon the environment. More than this bacteria which are found in water from one source will soon die if placed in water from another source. (I purpose publishing experiments shewing this in another paper.) Some of these bacteria grow upon ordinary gelatin which contains meat extract whilst others will not grow, or grow so very slowly that the gelatin becomes too dry for the colonies to continue to increase so that they become visible under a lens or under the microscope. If an organism be present in, say, "C" water which is killed by immersion in "E" water, it is highly probable that it will not grow in "E" gelatin, and this is the case with at least one organism.

The difficulty is still further increased by the fact that "D" gelatin does not give comparable results with different samples of water, and gelatin made with distilled-water extract of meat produces as a rule fewer colonies, than does "D" gelatin.

This leads to the conclusion that for many of the true water organisms the meat extractives act as poisons.

In order to prove this hypothesis I made gelatin which contained the meat extractives dissolved in "C", "B", and "A" waters. The "C F" gelatin (i. e. gelatin made in this way with "C" water) gave the following results:

Table V.

	"C" Gelatin.	"C F" Gelatin.
Filtered river	344	744 ¹⁾
" "	6944	1432
" "	466	158
" "	187	84
" "	107	41
" "	588	361
Surface well	24	16
" "	31	23
" "	160	92
" "	2424	414
" "	4990	7040 ²⁾

It may be urged that the number of true water bacteria in any sample is of little moment, it being more important to know the number of bacteria which are of possible excremental origin, and that the number growing upon ordinary gelatin would be of value as indicating this number. That this is not so is shewn by the accompanying table:

Table VI.

Number of colonies on ordinary gelatin.	Number of bacilli coli communis
144	1 in 135 c. c.
1504	1 " 1 " "
924	1 " 5 " "
109	1 " 5 " "
44	1 " 10 " "
960	1 " 1 " "
16,000	1 " 0,1 " "
620	1 " 0,5 " "
780	0 " 12 " "
584	0 " 12 " "
17,408	0 " 20 " "
407	0 " 25 " "
55,000	0 " 5 " "
8320	0 " 15 " "

Until it can be ascertained what medium and what conditions are necessary to obtain the maximum number of bacteria present any sample of water in the gelatin should be made without meat extract, and with the water to be examined.

1) This sample was polluted with sewage, and contained 2 Bacilli coli communis per c. c.

2) This sample was polluted with sewage, and contained 1 Bacillus coli communis per c. c.

Conclusions.

1. That plating upon ordinary gelatin whether made with distilled or „ordinary tap“ water gives no necessary criterion of the number of bacteria present.

2. That so far as possible the gelatin should be made without meat extractives with the water to be examined or with a sample of water similar in mineral constitution.

3. That, as a corollary to the above, the only satisfactory method of determining the contamination of water by sewage, is to ascertain the number of sewage organisms present in the water.

Referate.

Serkowski, St., Ueber den Bau der Bakterienkolonien.
[O budowie kolonii bakteryjnych.] (Pamiętnik Towarzystwa lekarskiego warszawskiego. Bd. XVC. Heft 2. Mit 3 Tafeln.)
[Polnisch.]

Auf Grund einer kritischen Uebersicht der bestehenden Klassifikationen kommt Verf. zu dem Schlusse, daß die üblichen Klassifikationen vom streng wissenschaftlichen Standpunkte aus als unzureichend, und vom praktischen Standpunkte aus als unbequem bezeichnet werden müssen. Verf. glaubt, in dem Bau der Kolonien eine Grundlage für eine neue Klassifikation der Bakterien und eine Erleichterung für die Differentialdiagnose gefunden zu haben. Den Ausgangspunkt für diese Anschauung bildet die vom Verf. festgestellte Thatsache, daß die Bakterienkolonien einen ziemlich komplizierten Bau aufweisen, und daß bei einzelnen Bakterienarten ein bestimmter Typus konstant zu beobachten ist. Seine Untersuchungen hat Verf. an in festen Nährmedien kultivierten Bakterien angestellt; die Kolonien hat er bei verschiedenen Vergrößerungen untersucht, in entsprechender Weise zerkleinert, indem er bald das Centrum, bald die Peripherie der Kolonien entfernte, keilförmige und andere Defekte machte u. s. w. In mehreren Versuchen hat Verf. die Entwicklung der Kolonien stundenlang ununterbrochen beobachtet. Auf Grund seiner Untersuchungen nimmt Verf. die Existenz von Intercellularsubstanz, welche in den Kolonien durch Zusammenfließen der einzelne Zellen umgebenden Kapseln entsteht, an. In jeder Bakterienkolonie liegt (central oder excentrisch) ein „centrales Gebilde“, welches häufig mit bloßem Auge gut sichtbar ist (*B. coli*, *B. janthinum* u. s. w.), und welches bei genauer Untersuchung sich als ein specielles Organ der Kolonie von ziemlich kompliziertem, für wohlcharakterisierte Bakterien-gattungen konstantem Bau herausstellt. Dieses centrale Gebilde (Matrix) ist als Keimcentrum aufzufassen. Das Keimcentrum kann sich, wie dies der Verf. durch stundenlange, ununterbrochene Beobachtungen festgestellt hat, aus einer einzigen Zelle, aber auch

aus einem einzigen Zellenkonglomerat entwickeln. Die Zufuhr des für das Keimcentrum nötigen reichlichen und frischen Nährmaterials wird vermittelt eines u. U. leicht sichtbaren „Centralkanal“ besorgt. Das durch die Thätigkeit des Keimcentrums gebildete „Parenchym“ der Kolonien ist nicht aus einzelnen Zellindividuen, sondern aus Zellenkonglomeraten, welche vom Verf. mit dem Namen „innere Tochterkolonien“ belegt werden, zusammengesetzt. Bei dem Versuch, die Kolonien zu zerteilen, gelingt es nimmer, einzelne Individuen zu isolieren; man bekommt dagegen bei diesem Versuche konstant Zellenkonglomerate. Die inneren Tochterkolonien kommen dadurch zu stande, daß die einzelnen Elemente gegenseitig angezogen (positive Biotaxis), die gebildeten Tochterkolonien gegenseitig abgestoßen (negative Biotaxis) werden. Das Parenchym der Kolonien stellt demnach ein Konglomerat von entwickelten, einer selbständigen Existenz fähigen Tochterkolonien dar, welche gegenseitig abgestoßen, aber durch die Resistenz der gemeinsamen Kolonienhülle und die Zähigkeit der Interzellulärsubstanz zusammengehalten werden. Die Kolonien sind je nach der Bakterien-gattung verschiedenartig zusammengesetzt; es giebt gleichmäßig granulirte, kugelförmige, sternförmige, konzentrisch-ringförmige u. s. w. Kolonien. Es liegt die Annahme nahe, daß in den sternförmigen Kolonien die Radialen eine Art von Skelett bilden, und daß in den ringförmigen der konzentrische Bau eine gleichmäßige Verteilung der Nährsäfte erleichtert. In den Coli-, Typhus u. a. weinblattförmigen Kolonien sind konstant sich vom Centrum aus astförmig verzweigende Furchen sichtbar, welche möglicherweise eine den in Pflanzenblättern vorkommenden Gefäßbündeln analoge Bedeutung besitzen. Alle Bakterienkolonien besitzen eine gemeinsame, doppelt konturierte Hülle, durch welche die „inneren Tochterkolonien“ zusammengehalten werden.

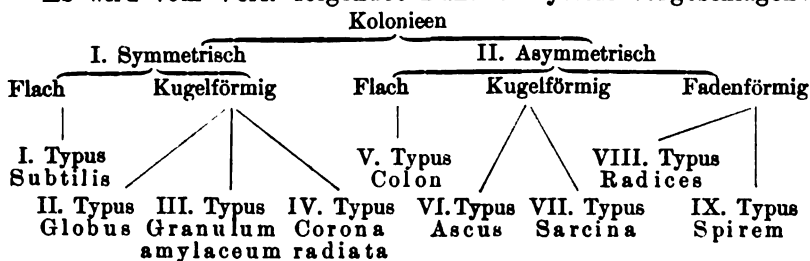
Verf. giebt an, festgestellt zu haben, daß den Bakterienkolonien eine den Regenerationsprozessen bei höheren Organismen nicht unähnliche Regenerationsfähigkeit innewohnt. Wird ein Teil der Kolonie beim Intaktlassen des Keimcentrums entfernt, dann wird die Lücke durch rascheres Wachstum ergänzt, wobei die neugebildeten Teile den früheren an Gestalt und Bau genau gleichen, wenn das Keimcentrum (Matrix) intakt war. Nach Entfernung von größeren Kolonieenteilen (z. B. der Hälfte) kommt es nur zur unvollständigen Regeneration. Aus den entfernten Kolonieenteilen werden im frischen Nährmedium normale Kolonien gebildet, woraus zu schließen ist, daß eine normal zusammengesetzte Kolonie sich nicht nur aus einer einzigen Zelle, sondern auch aus großen Zellenkonglomeraten entwickeln kann. Das übliche Zählverfahren ist demnach ungenau, weil es auf der grundfalschen Annahme fußt, jede Kolonie verdanke einem Zellindividuum ihren Ursprung. Als genau dürfte nur ein den Blutkörperchenzählungsmethoden nachgebildetes Verfahren gelten.

Auf Grund der Thatsache, daß jede Bakterienkolonie aus wohlcharakterisierten Teilen zusammengesetzt ist, und daß diese Zusammensetzung immer und unter verschiedensten Lebensbe-

dingungen für je eine Bakteriengattung konstant bleibt, muß die Bakterienkolonie als ein zusammengesetzter Organismus aufgefaßt werden. Die chemische Zusammensetzung des Nährmediums ist nicht imstande, den Typus der Kolonien irgend einer Bakteriengattung umzugestalten; durch verschiedene Nährmedien ist man imstande, nur die Wachstumsgeschwindigkeit, die Farbe, die Größe, die Durchsichtigkeit, das Peptonisierungsvermögen der Kolonie zu beeinflussen; ihr Bau, ihre feinere Zusammensetzung bleibt dabei unverändert.

Von sämtlichen Bakteriologen wird übereinstimmend die Gestalt und der Bau der Bakterienkolonien als ein äußerst wichtiges und erfolgreich verwertbares differentiell-diagnostisches Merkmal angeführt, es sind aber nirgends genauere Winke für zweckentsprechende Verwertung dieses Merkmales zu finden. Aus dem Grunde, um dem bestehenden Mangel abzuweichen, wird vom Verf. für differentiell-diagnostische Zwecke folgender Untersuchungsgang skizziert: 1) Die Beziehungen der Kolonie zum Nährmedium, ihre Gestalt, Farbe, Geruch, Durchsichtigkeit, Hülle, Matrix (Keimzentrum), innere und freigewordene Tochterkolonien, Skelett (Furchen), Centralkanal, Intercellularsubstanz, Vermehrungsart bei schwachen, dann bei immer stärkeren und stärksten (Deckglas-kultur) Vergrößerungen. 2) Tägliche, u. a. stundenlang ununterbrochene Untersuchung. Die charakteristischen Details treten meistens erst vom 3. Tag anfangen zu Tage. 3) Die bei der Untersuchung verwendeten Nährmedien müssen möglichst durchsichtig und entsprechend weich sein. Als Bestes hat sich Gelatine (5—12 Proz., Prozentgehalt bleibt in diesen Grenzen auf den Bau der Kolonien ohne jeden Einfluß) erwiesen. Zwischen den Gelatine- und Agarmedien giebt es keine wesentlichen Unterschiede. 4) Durch Verwendung von festen, an Nährstoffen reichen Medien ist es möglich geworden, die verschiedensten (unter natürlichen Bedingungen sogar selten vorkommenden) Entwicklungsstadien zu beobachten. 5) Die Gelatinepeptonisierung geschieht bei verschiedenen Bakterienarten in morphologisch verschiedener Weise. 6) Die auf der verflüssigten Gelatine gebildete Zoogloeahaut ist bei verschiedenen Bakterienarten verschieden, für je eine Bakterienart charakteristisch. 7) Um über den Bau der Kolonien irgend einer Bakterienart einen richtigen Begriff zu erlangen, ist es unumwendbar notwendig, eine bedeutende Kolonienanzahl zu untersuchen; sonst, auf Grund von einigen wenigen Untersuchungen, ist man nicht imstande, die abweichenden „pathologischen“ Kolonien richtig zu beurteilen.

Es wird vom Verf. folgendes Bakteriensystem vorgeschlagen:



I. Typus: „Subtilis“. Flache, konzentrisch-ringförmige Kolonien. Auf Grund von eigenen Untersuchungen werden hier vom Verf. eingereiht: *Bact. subtilis*, *Proteus vulg.*, oberflächliche Kolonien des *Bac. mesentericus fuscus*, *Bac. fluorescens liquefaciens*, *Bac. janthinum* und *Bac. fulvus Zimmermanni*. (Nach den Litteraturangaben dürften hier, dem Verf. nach, zugezählt werden: *Vibrio Finkler-Prior*, *Prot. sulfureus*.)

II. Typus: „Globus“. Massive, kugelförmige Kolonien: *Micr. tetragenus flavus*, *Sarcina ventriculi*, *Bac. megatherium*, *Micr. candicans* und *Bac. lactis aërogenes*. (*Micr. roseus*, *Micr. luteus*, *Streptococcus lanceolatus*, *Bac. hydrophilus fuscus*.)

III. Typus: „Granulum amylaceum“. Konzentrisch-kugelförmige Kolonien: *Micr. tetragenus ruber* und *Streptoc. coli gracilis*. (*Bac. cuniculicida*, *Micr. concentricus*.)

IV. Typus: „Corona radiata“. Konzentrische und strahlenförmige Kolonien: *M. radiatus*, *B. gracilis*, *Micr. agilis*, *B. prodigiosus* und *Cladothrix dichotoma*. (*B. pneumoniae* Friedländer, *B. septicaemiae haemorrh.*, *Vibrio albensis*, *Vibrio aquatilis*, *Spirillum rubrum*.)

V. Typus: „Colon“. Asymmetrische, flache, weinblattförmige Kolonien: *Bact. coli comm.*, *M. versicolor*, *Bac. acidi lactici Grotenfeld*, *B. fluorescens aureus*. (*B. mallei*, *Bac. fluorescens non liquef.*, *Bac. aquatilis sulcatus*, *Bac. indigogenus*.)

VI. Typus: „Ascus“. Massive, asymmetrische, septierte Kolonien: *Bac. syncyan.* (*Ascococcus Billrothi*, *Thiocystis violacea*.)

VII. Typus: „Sarcina“. Schichtenförmige, oberflächliche Kolonien ohne deutlichen Bau: sämtliche Sarcinen, *Sarcina ventriculi Goodsir* ausgenommen. (*Bac. aquatilis*, *Bac. plicatus*.)

VIII. Typus: „Radices“. Kolonien setzen sich aus verschiedenartig verwickelten, vom Keimzentrum entspringenden Fäden zusammen: *B. radiformis*, *Proteus mirabilis*, *Bac. lactis Flügge No. I.* (*B. Zopfii*, *B. arborescens*, *B. dendriticus*.)

IX. Typus: „Spirem“. Knäueelförmige Kolonien: *Bac. mesentericus vulgatus*. (*Corynebact. diphtheriae*, *B. anthracis*, *B. tetani*, *B. Chauvoei*, *B. filiformis*.)

(Der Arbeit sind 20 Mikrophotogramme beigelegt.)

Ciechanowski (Krakau).

Hahn, M., und Geret, L., Ueber das Hefe-Endotrypsin.
(*Zeitschr. f. Biologie*. Bd. XL. p. 117.)

Der Preßsaft aus Hefezellen, den man erhält, indem man die Hefen durch Verreiben mit Quarzsand und Kieselguhr zertrümmert und dann unter hohem Druck auspreßt, enthält ein kräftig wirkendes proteolytisches Enzym. Dieses Enzym hydratisiert so-

wohl die im Preßsaft selbst reichlich vorhandenen wie auch andere Eiweißstoffe.

Bei der Einwirkung des Enzyms auf den Preßsaft selbst werden die stickstoffhaltigen Substanzen in der Weise zerlegt, daß am Schlusse der Verdauung von dem Stickstoff der Verdauungsprodukte ungefähr 30 Proz. auf die Basen und 70 Proz. auf die Amidosäuren verteilt sind; im frischen, vom Eiweiß befreiten Preßsaft sind Basen und Amidosäuren in dem nämlichen Verhältnis zu einander vorhanden. Die Xanthinkörper, die in geringer Menge im Preßsaft auftreten, zeigen insofern ein interessantes Verhalten, als sie unter normalen Umständen nach der Verdauung noch in latenter Form vorhanden sind und nur durch Kochen mit einigen Säuren (z. B. Schwefelsäure) manifest werden. Bei Gasdurchleitung (außer Kohlensäure) zu Anfang der Verdauung und beim Evakuieren des Saftes während der ganzen Dauer der Proteolyse werden die Xanthinkörper direkt fällbar. Die Wirkung dieser Manipulationen muß zurückgeführt werden auf Entfernung der infolge der Hydratationsvorgänge auftretenden Kohlensäure; doch bleibt die Möglichkeit bestehen, daß außer der Kohlensäure noch andere chemische Substanzen oder physikalische Bedingungen eine Latenz der Xanthinkörper zur Folge haben können. Der großenteils organisch gebundene Phosphor im Preßsaft wird bei der Digestion zu $\frac{4}{5}$ — $\frac{5}{6}$ in Phosphorsäure übergeführt, und zwar kann der größte Teil schon nach einstündiger Digestion bei 37° in dieser Form nachgewiesen werden. Die Menge der Schwefelsäure, deren Schwefel in frischem Preßsaft $\frac{1}{4}$ des Gesamtschwefels beträgt, steigt nur unwesentlich an. Albumosen treten während des ganzen Spaltungsprozesses nur vorübergehend in geringer Menge auf; echtes Pepton ist auch intermediär nicht nachzuweisen, ebensowenig wie Pepton unter normalen Umständen in der Hefe zu finden ist.

Ganz wie die Verdauung der im Preßsaft enthaltenen Eiweißstoffe verläuft auch die anderer Eiweißstoffe.

Das Temperaturoptimum für die Wirksamkeit des Enzyms liegt zwischen 40 und 45°. Erhitzen auf 60° vernichtet das Enzym; bei 37° gehalten bleibt es nur 9—15 Tage wirksam.

Sauerstoffzufuhr wirkt eher fördernd als hemmend auf die Proteolyse ein. Von Antiseptics wirken bei Zusatz mäßiger Dosen nur Sublimat und Phenol hemmend. Blausäure hebt die Wirkung des Enzyms nicht auf, übt aber, in größerer Menge zugesetzt, einen geringen nachteiligen Einfluß aus. Neutralsalze wirken auch in konzentrierterer Lösung begünstigend, Glycerin und Rohrzucker bei höheren Konzentrationen hemmend. Säuren begünstigen die Wirkung des Enzyms; das Optimum entspricht 0,2 Proz. Salzsäure. Alkalien wirken hemmend, auch wenn sie nur in so kleiner Menge zugesetzt werden, daß sie den schwach sauren Preßsaft eben neutralisieren. Alkohol wirkt in Mengen von 5 Proz. schon nachteilig. Auch die Verdauung eines im Vacuum konzentrierten Preßsaftes ist verzögert.

Das proteolytische Enzym der Hefe stellt einen neuen Typus

der Verdauungsenzyme insofern dar, als es bezüglich der Bedingung saurer Reaktion den peptischen, in Bezug auf die Verdauungsprodukte, die weitgehende Zerlegung der Eiweißstoffe den tryptischen Enzymen entspricht, von allen bekannten Enzymen sich aber dadurch unterscheidet, daß es weder intermediär noch definitiv zur Entstehung von Peptonen Anlaß giebt.

Durch Fällung mit Alkohol und geeignete weitere Behandlung läßt sich das Enzym in verhältnismäßig reinem Zustande isolieren. Es ist dann nur mehr mit Alkohol, Bleiacetat, Merkurinitrat und Merkurichlorid fällbar, ist koagulierbar, giebt aber keine Millon'sche und keine Biuret-Reaktion. Es ist nicht dialysierbar (wohl aber dialysiert das Invertin des Hefepreßsaftes).

Das proteolytische Enzym findet sich, vermutlich in der Form eines Zymogens, in den Hefezellen unter allen Umständen. Es wird aber von normalen Zellen nicht secerniert, sondern erst beim Tode der Hefezelle frei.

Es ist anzunehmen, daß im Inneren der lebendigen Hefezelle aus dem Zymogen ständig durch Säurezutritt proteolytisches Enzym gebildet wird, das innerhalb der Zelle in einer durch chemische und physikalische Eigenschaften der Zellflüssigkeit sehr gemäßigten Weise die intracellulären „Desassimilationsvorgänge“ bewerkstelligt, d. h. den kontinuierlichen Abbau der Hefeleibessubstanz, dessen Verhältnis zum Aufbau wiederum abhängig ist von der Menge der gebotenen Nahrungs- und Energiequellen und dem Alter der Zellen.

Wie im Hefeplasma sind höchst wahrscheinlich in einer großen Zahl von pflanzlichen und tierischen Zellen, wenn nicht gar in allen, proteolytische Enzyme, zum Teil nur in Form von Zymogenen enthalten, die für die Desassimilationsvorgänge eine wichtige Rolle spielen, aber auch bei pathologischen Prozessen (Nekrose) zur Wirkung kommen. Für diese Enzyme, die intracellulär zu wirken bestimmt sind, schlagen die Verf. (mit Buchner) den Namen Endoenzyme vor und bezeichnen im besonderen das proteolytische Enzym der Hefe als Hefeendotrypsin.

Rudolf Abel (Hamburg).

Schorler, B., Beiträge zur Biologie der verunreinigten Wasserläufe. Die Mikroflora und -fauna der Elster und Luppe. (Zeitschr. für Gewässerkunde. 1900. Heft 4. p. 219—229.)

Verf. hatte früher (Zeitschr. für Fischerei. 1896. Heft 6) die Phanerogamenvegetation der durch die Abwässer Leipzigs verschmutzten Elster und Luppe geschildert. Die vorliegende Arbeit ist eine Ergänzung jener Arbeit, in der vorwiegend die niedere Pflanzen- und Tierwelt jener Flüsse berücksichtigt worden ist. Bei den Untersuchungen, die vom Juli 1898 bis Januar 1899 stattfanden, wurde auch die Mez'sche Zoneneinteilung der verunreinigten Flußläufe auf ihre allgemeine Verwendbarkeit geprüft und festzustellen versucht, welche Rolle die Phanerogamen in den verschiedenen Zonen spielen. Mez bezeichnet den stärksten Verschmutzungsgrad als Sphaerotilusstufe, der sich als schwächere Ver-

schmutzungsstufe die *Leptomitustufe* anschließt. Nur die erstere charakterisiert „die über das Gemeinübliche hinausgehende Verschmutzung“. Schikora (Zeitschr. f. Fischerei. 1899. Heft 1) fand in der Deichsa bei Haynau, daß in den stärker verunreinigten Teilen *Leptomitustufe*, in den schwächer verunreinigten *Sphaerotilus*, jedoch nicht *Sph. natans*, sondern eine neue, gegen Verunreinigung und Sauerstoffgehalt empfindlichere Art, *Sphaerotilus fluitans* Schikora vorlag. Die Untersuchungen der Elster und Luppe ergaben die Mez'sche Stufenfolge der Abwässerorganismen. (Auch Ref. kann für die Elster bei Greiz und ihre Zuflüsse Göltzsch, Aubach-Gräßlitz, Krebsbach die Stufenfolge bestätigen.) Verf. meint, daß sie einen sehr bequemen Maßstab zur objektiven Beurteilung der Stärke einer Verunreinigung durch fäulnisfähige Abwässer abgibt, nicht nur um bei Gutachten etc. die Grenzlinien der über das Gemeinübliche hinausgehenden Verschmutzung scharf zu ziehen, sondern auch, um verschiedene Flüsse auf den Grad ihrer Verunreinigung und die Schnelligkeit ihrer Selbstreinigung hin mit einander vergleichen zu können. Dadurch aber dürfte es in Zukunft möglich werden, diejenigen Bedingungen schärfer zu formulieren, welche die Selbstreinigung besonders günstig oder ungünstig beeinflussen. An dem Schwanken der unteren Grenzen der Mez'schen Stufen läßt sich ferner die Wirkung neu eingeführter Klärmethoden ganz einwandfrei beurteilen. Das sind alles Momente, welche für eine allgemeine Beachtung dieser Stufen bei biologischen Flußuntersuchungen sprechen. Auf die Schilderung der einzelnen Verschmutzungszonen, ihre Ausdehnung und Grenzen geht Verf. nicht näher ein, nur bemerkt er, daß der in jener ersten Arbeit geschilderte Zustand einer außerordentlich starken Verschmutzung der Elster und Luppe nicht mehr existiert, seitdem die Stadt Leipzig durch Aufwendung großer Summen die Uebelstände, die durch städtische Abwässer entstanden, bekämpft hat. Ausgedehnte Kläranlagen, in die die großen Schleusen geleitet werden, ehe sie die Abwässer den beiden Flüssen zuwenden, haben diesen erfreulichen Erfolg bewirkt. Da, wo sich früher ausgedehnte Vliese der weißen Abwäsepilze ausdehnten, wächst und blüht jetzt *Ranunculus fluitans*. Die Kläranlagen, in die die Schmutzwässer kommen, nachdem sie mit Eisensulfatlösung gemischt worden und die Schmutzteilchen sich absetzen, sind nicht ohne Lebewesen. An den Wänden bildet *Oscillaria formosa* Bory blaugrüne Häute, zwischen deren Fäden sich in großer Zahl *Cryptoglena pigra* Ehrb. tummelt, mehr vereinzelt *Scenedesmus quadricauda* Bréb. und *Spirochaete plicatilis* Ehrb. und Nematoden finden.

Das von den Schmutzteilchen befreite Wasser fließt aus den Bassins fast ganz klar, nur etwas opaleszierend zu einem Drittel in die Luppe, zu zwei Dritteln in die Elster. Unterhalb der Einflußstellen bilden die Abwässerorganismen weiße Vliese auf dem Boden oder Flocken und Zotten an Aesten und Balken, die fast nur aus *Sphaerotilus natans* bestehen, daneben findet sich *Crenothrix polyspora* Cohn, und wo die Zotten den Boden freilassen, bildet *Beggiatoa alba* auf dem schwarzen Schlamm ihre

sammetartigen weiß-grauen Decken, die mit den Wucherungen eines anderen Abwässerorganismus *Carchesium Lachmanni* Kl., der daneben vorkommt, große Aehnlichkeit hat. In großer Zahl findet sich dazwischen ein anderes Infusor, *Paramaecium putrinum* Cl. et Lachm., vereinzelt *Spirochaete plicatilis*, *Soendesmus quadricauda* Bréb., zeitweilig *Cymatopleura Sclea* oder *Synedra ulna*. Ferner werden in der *Sphaerotilus*-zone noch beobachtet *Melosira varians*, *Nitzschia sigmoidea*, *Surirella splendida*, *Closterium acerosum*. Von *Leptomitus lacteus* sah Verf. im Juli an der Einmündungsstelle der Abwässer gar nichts, erst weiter flußabwärts fand er ihn vereinzelt, dagegen trat derselbe im November hier in größter Ueppigkeit auf. Das Plankton der verschmutzten Flußläufe hat Verf. im Juli untersucht und zwar aus der *Sphaerotilus*-Zone der Luppe und Elster und zum Vergleich aus einem kleinen Teich, der durch wenig verunreinigtes Pleißewasser gespeist wird. In letzterem bestand das Plankton aus: *Volvox aureus* cop.², *Hydrodictyon reticulatum* cop.¹, *Melosira varians* spor., *Coelosphaerium Kützingianum* sol., *Merismopedium glaucum* Näg., und den folgenden Tieren: *Chydorus sphaericus* cop.³, *Nauplius* sp., *Anuraea cochlearis* cop.², *A. aculeata* cop.², *Scapholebris mucronata* cop.¹, *Cyclops Dubowskii* cop.¹, *Bosmina longirostris* cop.¹, *Asplachna priodonta* cop.¹, *Pedalion mirum* spor., *Triarthra longiseta* spor., *Macrothrix laticornis* spor.

Das Elsterplankton enthielt: a) Pflanzen: *Cladotrix dichotoma* cop.¹, *Melosira varians* spor., *Fragilaria crotonensis* spor., *Synedra Ulna* spor., *Nitzschia acicularis* spor., *N. sigmoidea* spor., *Surirella splendida* spor., *Closterium acerosum* spor., *Hydrodictyon reticulatum* spor.

b) Tiere: *Diffugia pyriformis* spor., *Anuraea cochlearis* spor., *A. aculeata* spor., *Brachionus brevispinus* spor., *Copepoden-Larven* spor. — cop.¹, *Nematode* sol. In der nicht verunreinigten Elster fand Marsson noch *Scenedesmus obliquus*, *Pandorina morum*, *Phacus pleuronectes*, *Dinobryum sertutaria*, *Synura ulvella*, *Closterium Pritchardiarum*, *Synedra actinastroides*, *Asterionella formosa*, *Fragilaria construens*, *Surirella ovalis* var. *minuta*, *Nitzschia linearis*. — *Brachionus amphicerus*, *Br. angularis*, *Mastigocerca hamata*, *Asplachna priodonta*.

Die *Sphaerotilus*-Zone der Luppe wies folgende Organismen auf:

a) Pflanzen: *Cladotrix dichotoma* cop.², *Zoogloea ramigera* cop.², *Sphaerotilus natans* cop.², *Spirochaete plicatilis* cop.¹, *Nitzschia sigmoidea* spor., *N. acicularis* sol., *Fragilaria crotonensis* sol., *Synedra ulna* sol., *Navicula* sol., *Arterionella formosa* sol., *Closterium acerosum* spor., *Oscillaria* sp. sol., *Pediastrum duplex* sol., *Pandorina morum* sol.

b) Tiere: *Amoeba verrucosa* spor., *Palomyxa tarda* spor., *Anuraea cochlearis* sol., *Brachionus Pala* sol., *B. falcatus* sol., *Bosmina longirostris* sol., *Nauplius* sp. sol., *Nematoden* sp. cop.¹

Bezüglich des Verhaltens der Phanerogamen in den Mezschen Stufen fand Verf. schon früher, daß in den am stärksten verunreinigten Teilen der Luppe und Elster unterhalb der Siele gar keine Vertreter der höheren Pflanzen sich finden, dafür aber die *Beggiatoavegetation*; doch reichen in die Hauptzone der Verunreinigung die Uferpflanzen und *Potamogeton pectinatus* var. *interruptus*, *P. crispus* var. *serrulatus*, *Ceratophyllum demersum*, *Lemna minor* und *L. polyrrhiza*, üppig von *Beggiatoa* überwuchert. Wo *Potamogeton pectinatus* in zerstreuten größeren Rasen sich einstellt, kann erst von dem ersten Sichtbarwerden des Reinigungsprozesses gesprochen werden. Einen noch höheren Grad von Reinheit dürfte das Vorkommen von *Nuphar luteum* anzeigen, den Abschluß des ganzen Prozesses der Zusammenschluß der Wasserpflanzen zu Beständen.

Es können auch nach den neueren Ermittlungen unterschieden werden: Erste pflanzenfreie Zone, zweite Zone mit vereinzelt aber schleimigen, d. h. mit Abwässpilzen besetzten Pflanzen, dritte Zone mit größeren schleimfreien Haufen, und vierte Zone mit größeren Pflanzenbeständen und reinem Wasser. Die erste und zweite Zone bilden zusammen die *Sphaerotilus*-Stufe von Mez. Der Anfang der vierten Zone fällt mit der unteren Grenze der *Leptomitus*-Stufe zusammen. Ludwig (Greiz).

Woronin, M., Ueber *Sclerotinia cinerea* und *Sclerotinia fructigena*. (Mémoires de l'Académie Impériale des Sciences de St. Pétersbourg. Série VIII. Classe physico-mathématique. Vol. IX. 1900. No. 5. 38 p. und 6 Tafeln.)

Die Arbeit giebt eine eingehende Monographie der beiden die Obstbäume bewohnenden Pilze *Monilia cinerea* Bon. und *M. fructigena* Person, die Verf. in die Gattung *Sclerotinia* stellt, obwohl es ihm nicht gelungen ist, sie zur Entwicklung der Becherform zu zwingen und für die er den Nachweis erbringt, daß sie 2 wohl unterschiedene Arten darstellen, obwohl neuerdings J. Behrens, R. Aderhold, C. Wehmer, B. Frank, F. Krüger sie noch zu einer Art gerechnet haben.

Seit die *Monilia*-Krankheit der Kirschbäume in vielen Gegenden Deutschlands einen epidemischen Charakter angenommen hat, ist die Litteratur über beide Pilze wesentlich angewachsen. Der Zweck der vorliegenden Arbeit ist es, einige bis jetzt fehlende ausführlichere Data über ihre Entwicklungsgeschichte zu geben, die Verf. teils durch Verfolgung ihres Entwicklungsganges im Freien, teils durch eine Reihe von Kulturversuchen auf verschiedenen Nährsubstanzen gewonnen hat.

Sclerotinia cinerea (Bon.) Schröter (p. 2—18). Obwohl die beiden Pilze bei künstlichen Infektionsversuchen leicht von einer Obstsorte auf die andere übertragbar sind, scheint im

Freien *Sclerotinia cinerea* fast ausschließlich auf Steinfrüchtler angewiesen, während *Scl. fructigena* vorwiegend das Kernobst befällt.

Als Urheber der Kirschbaumkrankheit wird in neueren Arbeiten irrtümlich *Monilia* (= *Sclerotinia*) *fructigena* angegeben; Verf. fand aber an den Kirschbäumen, die er 1897—1899 in Finnland sorgfältig untersuchte, immer nur *Scl. cinerea* und nie *Scl. fructigena*.

Das überaus starke plötzliche Auftreten der Kirschen-Moniliakrankheit in Gegenden, wo sie früher nicht bekannt war, ist analog den Erscheinungen anderer pflanzlicher und tierischer Organismen, die eine gewisse Periodizität üppigerer und geschwächter Entwicklung zeigen, wie z. B. auch der *Sclerotinia Padi* Wor. und *Scl. Aucupariae* Ludw. Verf. traf die beiden letzteren in Finnland besonders massenhaft 1885—1892, schon 1893—1894 waren sie seltener und in den folgenden Jahren verminderte sich die Zahl der kranken Zweige und Blüten der Traubekirsche und Eberesche immer mehr, so daß 1899 nur noch ganz vereinzelte Blätter und Blüten infiziert waren. In ähnlicher Weise brachte die *Scl. cinerea* bis 1897 in Finnland den Kirschbäumen nur einen kaum bemerkbaren Schaden, 1897 erkrankten die Bäume aber derart, daß die Blüten und viele Zweige völlig vom Pilz befallen waren, 1898 trat das Uebel noch stärker zu Tage, 1899 war es fast ganz verschwunden.

Die Ansteckung der Kirschbäume erfolgt, wie R. Aderhold zuerst fand, durch die Narben, und das ist nach Verf. die einzige natürliche Art der Infektion. Eine Erkrankung der Blätter durch Vermittelung darauf gefallener kranker Blüten traf Verf. nie und kann dieselbe nur eine zufällige Erscheinung sein. Unter dem Einfluß des Narbensaftes treiben die durch Wind oder Insekten übertragenen Sporen Fäden aus, die in die Griffel und von da in die übrigen Blütenteile eindringen. Allmählich steigt er auch in den Blütenstiel bis zur Basis und von hier in andere Blüten aufwärts und in die Knospenblätter, den Tragzweig und erst von diesem aus in die Laubblätter von der Blattbasis aus ein, so daß ganze Laubtriebe welk werden. An den Teilen, besonders den Tragzweigen, tritt gewöhnlich ein Gummiabfluß ein. — Die Fruktifikation des Pilzes beginnt bald nach dem Eintreten der Krankheit an Griffeln, Antheren und dann üppiger an den Blütenstielen in Form kleiner Schimmelräschen, die aus den perlchnurartigen „Gonidien-“ oder Chlamydosporenreihen bestehen. Sie stellen am Kirschbaum die einzige Fruktifikation dar, die sich auf seine Blüten verbreitet, im Sommer aber nie auf Blättern und Stengeln beobachtet werden. Erst im Herbst paßt sich der Pilz zur Ueberwinterung an.

Die an Stengeln, Blattstielen, abgestorbenen Blütenstielen unter der Epidermis wuchernden Mycelfäden verflechten sich zu *sclerotium*-ähnlichen Stromagebilden, die innen weiß, außen bräunlich oder fast schwarz aussehen. In diesem Zustand überwintert der

Pilz, um sich im Frühjahr zu neuer Chlamydosporenbildung anzuschicken. Damit ist der Entwicklungszyklus erschöpft.

Anders verhält sich der Pilz auf künstlichen Nährsubstraten, wenn er künstlich auf andere Obstsorten übertragen wird.

Die *Monilia*-Sporen von *Sclerotinia cinerea*, wie die von *Scl. fructigena* gleichen in Entwicklung und Struktur völlig denen der übrigen gut bekannten Sklerotiniinen, nur fehlen die Disjunktoren (oder sind rudimentär); an ihrer Stelle wird die Zergliederung durch Zerreißen der Membran bewirkt. Die Sporen sind bei beiden Arten vielkernig.

Die reifen „Gonidien“ (so nennt Verf. die Oidium- oder Chlamydosporen) von *Sclerotinia cinerea* keimen in reinem Wasser gewöhnlich leicht aus. Schon nach $1\frac{1}{2}$ —2 Stunden entsteht ein seitlicher papillenartiger Auswuchs, der sich allmählich verlängert und zu einem einfachen oder verzweigten spärlich septierten Faden auswächst. Der Faden verläßt bei weiterem Wachstum aber sein Plasma und geht bald zu Grunde. Ebenso schnell keimen die Gonidien in Pflaumendekokt, nur viel üppiger. Wie bei der Wasserkeimung wandern bald die Zellkerne in den Faden. Sie vermehren sich durch wiederholte Zweiteilung, so daß in plasmareichen Fäden einzelne Glieder mit Zellkernen ganz voll gepropft sind. Anastomosen treten zwischen den Gonidien wie zwischen den Fäden häufig auf. Die auf Objektträgern in Pflaumendekokte kultivierten Keimfäden der *Sclerotinia* teilen sich durch Querwände, verzweigen sich nach allen Richtungen und bilden schon am 1. oder 2. Tage nach der Aussaat ein sehr üppiges Mycel. Auf diesem entwickeln sich bald höchst eigentümliche geweihartige Verzweigungen in großer Zahl, die bei Berührung reichlich anastomosieren und einen lebhaften Impuls zu weiterer Neubildung erfahren, schließlich entstehen kleine, linsen- bis erbsengroße, fast schwarze Knäuelkörper sklerotischer Natur.

Ob sie die ersten Anlagen von Sklerotien bilden oder die „Primordien“ einer Becherfrucht sind, und welche Rolle dabei die geweihartigen Gebilde spielen, blieb dem Verf. unerklärt. In der Natur sah er diese Gebilde nie, wohl aber hat Aderhold analoge Bildungen bei dem „Vermehrungspilz“ beobachtet, der wahrscheinlich zu *Sclerotinia* gehört. Die Objektträgerkulturen in Pflaumendecoet bilden später immer feinere und zartere Mycelfäden, die durch Anastomosen ein maschiges Fadennetz bilden. Aus ihm wachsen aufrechte oder horizontale, reich septierte Seitenzweige mit kurzen Nebenästen, die perlartige Sporidien abschnüren. Die Bildung von Sporidien tritt bald so stark auf, daß sich dieselben an vielen Stellen in ansehnlichen Klumpen anhäufen. Die nämliche Sporidienbildung kommt auch bei *Scl. fructigena* vor. Zur Gonidienbildung konnte der Pilz in Objektträgerkultur in Pflaumendekokt nicht gebracht werden, wohl aber kam es sehr bald zu üppiger Gonidienbildung auf Brotbrei mit Pflaumendekokt und Gelatine, ebenso auf Apfelbrei mit Gelatine. Die auf diese Weise in der Kultur erzeugten Gonidien sind meist größer, als die im Freien. Es scheint demnach die saprophytische Lebens-

weise dem Pilz mehr zu passen, als die parasitische auf den kranken Kirschbäumen. Von der ersten im Mai angestellten Gonidienaussaat aus konnte Verf. im Laufe des Sommers eine lange Reihe aufeinander folgender Kulturen erhalten, wobei in jeder Kultur zuerst aus dem lockeren Mycel Gonidienräschen emporwuchsen und später die Mycelfäden in eine feste sklerotische, die ganze Oberfläche des Substrates bedeckende Kruste sich verflochten. Die Mycelien der beiden Sklerotinien lassen sich nicht voneinander unterscheiden. Die auf verschiedenen Nährböden, besonders auf Pflaumenbrei gezüchteten sklerotischen Krusten sehen den Sclerotiengebilden der schwarzen Aepfel und zum Teil auch denen in mumifizierten Kirschen nistenden derart ähnlich, daß man dieselben oft sehr schwer voneinander unterscheiden kann. Andererseits giebt uns die große Aehnlichkeit dieser sklerotischen Krusten und Häute mit den Sklerotien vieler Sklerotinien die Vermutung, daß sie auch bei *Scl. cinerea* und *Scl. fructigena* nach einer gewissen Ruheperiode in Askosporenbefruchte auswachsen können. Verf. hat während der 3 letzten Jahre jeden Sommer die sklerotischen Krusten beider Pilze ganz massenhaft, fast fabrikmäßig erzeugt und alle möglichen Aussaatversuche damit angestellt, aber ohne jeglichen Erfolg. Entweder blieben sie unverändert steril und gingen zuletzt zu Grunde, oder sie bedeckten sich wieder mit der charakteristischen Gondienfruktifikation.

Sclerotinia fructigena Schröter (*Monilia fructigena* Pers., *Oidium fructigenum* Schm. et Kze.) ist der gewöhnlichste, allbekannte „Fruchtschimmel“ des Kernobstes. Im Freien greift er am meisten die Aepfel an, findet sich aber auch auf Birnen, Quitten und anderem Kernobst nicht selten, Verf. traf ihn mehrmals sogar auf *Sorbus Aucuparia*. Durch Impfung läßt er sich auch auf alle Sorten des Steinobstes (Kirschen, Pflaumen, Pfirsiche etc.) mit bestem Erfolg übertragen. In vereinzelten, von Sorauer, Frank und Krüger berichteten Fällen ging der Pilz durch den Fruchtstiel abwärts ins Holz und brachte die Zweigspitzen und das Laub zum Absterben; über ein wahres epidemisches Auftreten einer Zweig- oder Laubdürre an Apfelbäumen, wie dieselbe durch *Sclerotinia cinerea* an Kirschbäumen verursacht wird, ist dagegen noch nirgends geklagt worden.

Die durch den Pilz befallenen Kernobstfrüchte, zumal die Aepfel, unterliegen einer von der gewöhnlichen Fäulnis unterschiedenen Beschädigung. Das Fruchtfleisch wird braun gefärbt, geht aber dabei nicht breiig auseinander, sondern bleibt fest und zeichnet sich durch seine eigentümliche Trockenheit aus. Die Erkrankung tritt an den abgefallenen, wie an den am Baum hängenden Aepfeln in gleicher Weise auf, letztere bleiben oft bis zum nächsten Frühjahr am Baum und werden zu echten „Mumien“. Der Anfang der Erkrankung erscheint auch in Form eines kreisrunden braunen, sich über die ganze Oberfläche vergrößernden Fleckes, der sich mit den in konzentrischen Kreisen auftretenden Gonidienpusteln bedeckt. Den Mycelfäden entspringen kompakte Fadenbündel, die den be-

kannten quastenförmigen Haftorganen der von Brefeld, de Bary, Marshall Ward untersuchten Becherpilze (*Sclerotinia tuberosa*, *Sclerotiorum ciborioides*, *Scl. Tuckeriana*, *Botrytis cinerea*) sehr ähnlich sehen. Sie strecken sich senkrecht gegen die Oberhaut des Apfels, bohren sich durch die Zellen derselben bis zur Cuticulaschicht einen Weg und schmiegen sich an letztere fest an, so stark darauf drückend, daß sie sich von der Epidermis loslöst. Unter der Wirkung des weiter fortdauernden Druckes wird die Cuticula von jedem durchwachsenden quastenförmigen Polsterkörper unregelmäßig zerrissen und korbformig, zumeist mit eingerollten Rändern auswärts zurückgeschlagen. Die Hyphen der jungen Polsterkörper sind an den Enden sehr dick und tragen hier kurzgliederige Verzweigungen, deren dünnere Endzweige in die di- und trichotom verzweigten torulösen Gonidienketten auswachsen, die schließlich zerfallen.

Die reifen pulverigen Gonidienpolster der *Sclerotinia fructigena* sehen immer hellbraungelb oder okerfarbig aus, während sie bei *Sclerotinia cinerea* eine graue Färbung haben. Ein weiterer Unterschied liegt in der Größe und Gestalt der Gonidien. Bei *Sclerotinia fructigena* sind die Gonidien immer größer als bei *Scl. cinerea*, obwohl sie ebenfalls nach dem Substrat in der Größe schwanken; Figuren und angegebene Maße zeigen das deutlich. Die Gestalt ist wie bei anderen Sclerotinien citronenförmig; bei *Scl. fructigena* sind die Gonidien mehr in die Länge ausgezogen, verlängert-ellipsoidisch, bei *Scl. cinerea* mehr abgerundet. Die künstlichen Kulturen beider Pilze führen zu gleichen Resultaten, nur war ein großer Unterschied im Verhalten beider in Pflaumendekokt nachzuweisen. Bei *Scl. fructigena* fehlen die geweiartigen Organe stets, dagegen tritt Gonidienfruktifikation sehr üppig auf. Die schwarze Farbe der sklerotischen Apfelrinde (der Pilz verursacht die „Schwarzfarbe“) rührt von einem dunklen, schmutzig-olivnen, braunen Pigment her, welches in den peripherischen Schichten ihrer beiden (d. h. der oberen der Cuticula anliegenden und der unteren, dem Apfelfleisch zugewendeten) Flächen sich ablagert und hier den Inhalt stark färbt. Äpfel, wie Quitten werden gleich schwarz von glänzendem lackierten Aussehen. Nicht jeder Apfel wird schwarz, was wohl von der verschiedenen Derbheit der Cuticula abhängt. Aus den schwarzen Äpfeln wachsen gewöhnlich gar keine oder nur spärliche Gonidienpolster aus. — Auch im Fruchtfleisch und Kerngehäuse und an der Oberfläche des Apfels bilden beide Pilze sklerotische Klumpen, mit denen aber ebenso erfolglos experimentiert wurde, wie in den oben erwähnten Fällen. Trotzdem bleibt aber Verf. bei seiner Meinung, daß die beiden obstbewohnenden Pilze — *Monilia cinerea* und *M. fructigena* — der Gattung *Sclerotinia* angehören. Es sind dann zweierlei Erscheinungen möglich: entweder haben die Pilze, wie es J. Humphrey und Ed. Prillieux annehmen, die Schlauchfrucht, die sie früher besaßen, eingebüßt und nur noch die Gonidienform behalten, oder die Sklerotien beider

Pilze, die bisher zu den Versuchen verwendet wurden, hatten noch nicht die genügende Altersreife und können nur mit der Zeit zu Schlauchfrüchten auswachsen.

Die spezifische Verschiedenheit der beiden Pilze zeigen noch besonders deutlich die damit vorgenommenen Kreuzimpfungen. Zunächst infizierte Verf. Kirschen- und Apfelblüten im Freien am Baum und an abgeschnittenen Aesten, die unter Glasglocken in feuchter Atmosphäre gehalten wurden und zwar an verschiedenen Zweigen, einerseits mit den Gonidien der *Scl. cinerea*, andererseits mit denen der *Scl. fructigena*. Als Resultat am Kirschbaum ergab sich folgendes: Die Gonidien der *Scl. cinerea* keimten auf den Narben in Fäden aus, die durch die Griffel in die übrigen Teile der Blume eindringen und überall graue Gonidienpolster erzeugten; weiter ging der Pilz in Stengel und Blätter über und erzeugte volle Infektion, echte Blüten- und Blätterdürre.

Die Gonidienkeime der *Scl. fructigena* griffen die Kernblüten gleichfalls an und entwickelten sogar die charakteristischen ockergelben Gonidienpolster, weiter ging der Pilz aber nicht. Am Apfelbaum fand das Entgegengesetzte statt. Die Gonidien der *Scl. cinerea* keimten aus, vermochten aber nur die Griffel anzugreifen, ohne weiter in die Apfelblüte einzudringen. Die Gonidienkeime der *Scl. fructigena* drangen dagegen in die Apfelblüten und in Stengel und Blattstiel und erzeugten die ockergelb gefärbten Gonidienpolster des Pilzes. Auch die Infektionsversuche an reifen Kirschen und Pflaumen (durch Oeffnungen) sind sehr überzeugend. *Scl. cinerea* erzeugt graue, *Scl. fructigena* immer nur ockergelbe Pusteln. *Scl. cinerea* erzeugte bei einzelnen Kirschen auch Schwarzfäule. Aepfel ließen sich (durch verletzte Oberhaut und Cuticula) auf allen Altersstufen sofort durch *Scl. fructigena* leicht infizieren, dagegen waren sie gegen *Scl. cinerea* bis zu einem gewissen Alter völlig immun.

Die Infektionsstellen beider Pilze sind sofort zu unterscheiden. Beachtenswert war bei Aepfeln, Pflaumen, Pfirsichen etc. die scharf ausgesprochene Demarkationslinie, die sich zwischen beiden Pilzherden bildete.

Beide Pilze sind Kosmopoliten, treten aber nicht überall und zu allen Zeiten epidemisch auf.

Als Bekämpfungsmittel gegen die Krankheit empfiehlt Verf. als einzig wirksames und radikales Mittel das Feuer.

Ludwig (Greiz).

Ewart, Einige der Blutlaus ähnliche Pflanzenläuse. (Proskauer Obstbauztg. Bd. IV. 1899. p. 136—140.)

Zusammenstellung derjenigen Phytophitren aus den Familien der Aphiden, Phylloxeriden und Cocciden, welche in der Praxis zu Verwechslungen mit *Schizoneura lanigera* Anlaß geben können; Angaben über Wirtspflanzen und Beschaffenheit der Schädigungen. Arnold Jacobi (Berlin).

Verson, E., Un'affezione parassitaria del filugello non descritta ancora. (Rivista di Patologia vegetale. An. VII. Firenze 1899. p. 273—280. Mit 1 Taf.)

Eine der Raupenhaut kaum entschlüpfte Puppe der Seidenraupe wurde in essigsäurehaltiges doppelt chromsaurer Kali eingelegt und mit Kleinenberg's Hämatoxylin gefärbt. Im lebenden Zustande war das Tier vollkommen weiß; aus dem Fixierbade jedoch in Alkohol gebracht, wies es auf der Haut des Hinterleibes längliche, unregelmäßige Flecke von bräunlicher Farbe auf. Der Sitz dieser Farbenspeicherung war in der Hypodermis; gleichzeitig erschienen jedoch auch die übrigen Gewebe alteriert. Die Muskelfasern erscheinen knotig aufgetrieben; ihre Streifung ist verschwunden, der fibrilläre Stoff zergeht sichtlich, das Sarkolemm zieht sich zusammen und wird runzelig. Die knotigen Auftreibungen werden von heterogenen Gebilden hervorgerufen, die sich innerhalb des Sarkolemm dicht zusammenhäufen. Das Fettgewebe erscheint gleichfalls unregelmäßig gefleckt.

Die erwähnten Einschlüsse im Sarkolemm, welche eine ausgesprochene Tendenz zur Aufspeicherung des Hämatoxyllins zeigen, bilden mehr oder weniger verbreitete feinkörnige Massen, die in ihrem Aussehen an die Zoogloen bekannter Bakterien erinnern. Bei 1000maliger Vergrößerung heben sich jedoch zwei verschiedene Formen deutlich, in dichten Massen, ab: Die eine Form liegt mehr im Innern der Gewebe, während die zweite mehr peripher, in Berührung mit den häutigen Hüllen der Gewebe, vorkommt.

Die erstere der beiden Formen ist von rundlicher Gestalt („Kügelchen“), mit variablem, doch bis zu einem Maximaldurchmesser von $4\ \mu$; mit dünner, aber deutlich gezeichneter Hülle. Im Centrum liegt ein kleiner, von einem Hofe umgebener Kern; das Ektoplasma erscheint feinkörnig. Dazwischen kommen kleine, unregelmäßige, kernlose Massen vor. — Unterhalb der Hüllmembranen der Gewebe, stets peripher, kommen die zweiten Formen („Keime“) vor von länglicher, manchmal zugespitzter Gestalt, mit weniger als $1\ \mu$ im Durchmesser, eine Vakuole führend. Dort, wo diese gehäuft vorkommen, liegt ringsherum ein eigener Hof. Gewöhnlich geht die Veränderung einer Zelle erst dann vor sich, wenn die benachbarte zerstört worden ist.

Kügelchen und Keime sind Entwicklungsstadien eines einzelligen Organismus, welcher in den Geweben der Seidenraupe parasitiert. Die Praktiker erkennen schon an äußeren Merkmalen mit freiem Auge das Auftreten dieser noch nicht näher gedeuteten Krankheit.

Solla (Triest).

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Jundell, J., Ny apparat för bakteriernas oskadliggörande i mjölk och dess hygieniska betydelse enligt undersökning vid applikation till G. Salenii radiator. [Neuer Apparat zum Unschädlichmachen der Bakterien in Milch und dessen hygienische Bedeutung nach Untersuchung bei Applikation an dem Radiator von G. Salenius.] (Nord. Med. Ark. N. F. Bd. XI. 1900. No. 14. Heft 3. p. 1—16.)

Jundell hebt hervor, daß die gewöhnlichen an Milchseparatoren angebrachten Pasteurisierungsapparate gar nicht ausreichen, um Tuberkelbacillen zu töten. Den von G. Salenius konstruierten „Radiator“, der aus der pasteurisierten Milch unmittelbar Butter bereitet, hat J. mit S. zusammen durch Hinzufügung eines sogenannten „Zeitballons“ verbessert. Dieser besteht aus einem Metallcylinder, mit Holz und Asbestpappe bekleidet, der durch (12) Metallscheiben in kleinere Räume abgeteilt wird. Diese Scheiben sind an einem durchlaufenden Rahmen befestigt, und jede zweite ist in der Mitte von einem großen Loch durchbohrt und paßt mit dem Rande genau an die Wand des Cylinders und ist dort mit dichter Gummipackung versehen. Die übrigen Scheiben haben kein Loch, reichen aber nicht ganz bis zur Wand des Cylinders, sondern lassen dort einen kreisförmigen Raum für die Passage der Milch. Diese wird oben am Cylinder aus dem Pasteurisierungsapparate hineingebracht und fließt unten direkt nach dem eigentlichen Radiator ab, den ganzen Cylinder zickzackförmig zwischen den Scheiben passierend. In dieser Weise konnte die ganze Milchmasse während längerer Zeit bei erwünschter Temperatur gehalten werden. Die Größe des „Zeitballons“ wird nach der Pasteurisierungstemperatur und nach dem Leistungsvermögen der Maschine gerichtet. Bei den Untersuchungen über die Wirkung, die bei einer Pasteurisierungstemperatur von 84° und von 74° erzielt wurde, wurde die Milch in jedem Versuche mit 1½—2 4-wöchentlichen Glycerinbouillonkulturen (in größeren flachen Kolben gewachsen) versetzt. Von der abgerahmten Milch und der Butter, welche unmittelbar aus dem Radiator aufgesammelt wurde, spritzte J. 6—7 ccm Meerschweinchen intraperitoneal ein. Einigen Meerschweinchen wurde eine etwa erbsengroße Masse von dem Milchschlamme, der im Mikroskop unzählige Tuberkelbacillen zeigte, ins Peritoneum eingeführt. Diese sämtlichen Tiere (17 an der Zahl) blieben gesund, während die mit 3 ccm der ursprünglichen mit Bacillen versetzten Milch gespritzten Meerschweinchen (4 an der Zahl) nach 20 bis 21 Tagen an ausgesprochener Tuberkulose starben. Impfungen an schrägem Agar mit dem Material, das den Apparat passiert hatte, erzeugten sehr wenige Kolonien.

Anna Stecksén (Stockholm).

Du Roi, Ueber die Erhitzung der Vollmilch oder deren Nebenprodukte in den Sammelmolkereien. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1900. Heft 12.)

Die Landwirtschaftskammer für die Provinz Brandenburg macht behufs Verhütung von Seuchenübertragungen den Sammelmolkereien zur Pflicht, entweder die Vollmilch oder die Nebenprodukte des Molkereibetriebes: Magermilch, Buttermilch und Molken bei der Zurückgabe an die Lieferanten auf 100° C zu erhitzen. Mittels dieser Maßregel soll die sichere Abtötung der in der Milch vorhandenen Krankheitserreger bezweckt werden; bei niedrigerer Temperatur (z. B. 85° C) ist die Vernichtung derselben nur dann möglich, wenn diese Temperatur mindestens einige Minuten lang auf die Milch einwirkt, während bei 100° C die augenblickliche Abtötung als gesichert erscheint. Bei Anwendung der sogenannten Regenerativerhitzer verursacht das Erhitzen der Milch auf die hohe Temperatur nur geringe Mehrkosten, die kaum in Betracht kommen gegenüber den Gefahren, die mit der Weggabe ungekochter Milch verbunden sind. Irgendwelche Bedenken gegen die Erhitzung der Vollmilch liegen bei Anwendung der genannten Apparate nicht vor, und zwar ebensowenig hinsichtlich der technischen Durchführbarkeit des Verfahrens, wie auch im Hinblick auf Qualität und Quantität der Butter. Es ist allerdings notwendig, daß der Rahm der erhitzten Milch nachher in entsprechender Weise zur normalen Säuerung gebracht wird, da durch die Erhitzung nicht nur die schädlichen Bakterienarten, sondern auch die Milchsäurebakterien abgetötet werden. Der beste Säureerreger ist nach Verf.'s Angabe eine fehlerfreie Magermilch, welche aus einem seuchefreien Kuhstalle und von klinisch gesunden Tieren stammt. Ist solche nicht zu haben, so bleibt nichts anderes übrig, als die Bereitung eines Erregers aus gehörig pasteurisierter Magermilch unter Zusatz einer Reinkultur von Milchsäurebakterien.

Wo die Erhitzung der Vollmilch nicht möglich erscheint, könnte mit gleichem Erfolge die getrennte Erhitzung von Rahm und Magermilch vorgenommen werden. Von der Erhitzung der fertigen saueren Buttermilch möchte Verf. abraten, da dies mit großen Schwierigkeiten verbunden ist, es wird dabei der Käsestoff von dem Molken geschieden und infolge dieses Umstandes erleidet die Buttermilch an Verwertungsmöglichkeit eine erhebliche Einbuße.

Die Grundbedingung für die regelrechte Durchführung der Milcherhitzung ist die, daß nur vollkommen süße Milch den Erhitzungsapparaten zugeführt wird, denn säuerliche Milch läßt sich ohne Gerinnung nicht erhitzen. Die geronnene Masse des Käsestoffes lagert sich in den Apparaten ab, brennt an und stört somit nicht nur die Wirkung der Heizflächen, sondern beeinträchtigt auch die Beschaffenheit der Produkte und — sofern es sich um die Vollmilch handelt — auch die Entrahmung der letzteren. Die Sammelmolkereien müßten folglich alle Milch, welche die Kochprobe nicht aushält, von der Annahme ausschließen.

Thomann (Bern).

König, J., Beiträge zur Selbstreinigung der Flüsse. (Zeitschr. f. Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel. III. Jahrg. 1900. p. 377—401.)

Unter Selbstreinigung der Flüsse hat man, wie Verf. schon in einer früheren Schrift auseinandergesetzt hat (Verunreinigung der Gewässer etc. 2. Aufl. p. 217), die völlige Unschädlichmachung verunreinigender Bestandteile zu verstehen, indem letztere mit den natürlichen Bestandteilen des Wassers unschädliche Verbindungen eingehen oder sich in verflüchtigende Gase umwandeln.

Die rein chemischen Umsetzungen sind einfache Vorgänge, weniger aufgeklärt ist die Frage: Wodurch wird die Umsetzung der organischen Stoffe bewirkt und wo bleiben sie?

Eine direkte Oxydation der organischen Stoffe im Wasser ist bis jetzt nicht nachgewiesen. Nur die Umwandlung des Schwefelwasserstoffes bezw. der Sulfide in Schwefelsäure bezw. Sulfate, die Ueberführung von Ferroverbindungen in Ferriverbindungen oder ähnliche Vorgänge können auf eine direkte Oxydation zurückgeführt werden.

Die Versuche von Fleck (Jahresber. d. Kgl. chem. Centralstelle f. öffentl. Gesundheitspf. Dresden 1884. p. 54) und Uffelmann (Archiv f. Hyg. 1886. p. 82), wonach Ammoniak in starker Verdünnung und bei starker Flächenattraktion (in Filtrierpapier, Watte, Glaswolle) durch den Luftsauerstoff direkt zu Salpetersäure oxydiert wird, hat Verf. nachgeprüft, weil sie den jetzigen Anschauungen nur durch Bakterien entgegenstehen und unter Umständen, wenn sie richtig wären, doch durch dünne Ausbreitung von schmutzigem Wasser bei Filter- oder Gradierwerken von Belang sein könnten.

Die Versuche ergaben folgende Schlußfolgerungen:

1) Eine direkte Oxydation des Ammoniaks durch den Luftsauerstoff beim dünnen Ausbreiten schwacher Ammoniaklösungen in faserigen Stoffen (sei es in Heber- oder Filterform) scheint nicht stattzufinden; die auf diese Weise qualitativ nachgewiesene Salpetersäure kann auch direkt aus der Luft aufgenommen sein.

2) Setzt man dagegen zu lockeren Filtermassen Garten- (bezw. Acker-) Erde, also nitrifizierende Bakterien, so findet in den Filtern alsbald eine lebhafte Nitrifikation statt.

3) Auch in den nicht geimpften Filtern von derselben Grundmasse tritt mit der Zeit, wenn die zu filtrierenden Flüssigkeiten Nitrifikationsbakterien enthalten oder solche aus der Luft in dieselben gelangen, Nitrifikation ein.

4) Die Salpeterbildung verläuft in verdünnten Flüssigkeiten mit bis zu 400 mg. Ammoniakstickstoff in 1 l rascher und vollkommener, als in gehaltreicheren Flüssigkeiten.

5) Die Nitrifikation und weiter überhaupt die Oxydation durch oxydierende Bakterien wird in den Filtern durch fein verteilte Oxyde, wie z. B. Manganoxyde, die leicht Sauerstoff abgeben und wieder aufnehmen, unterstützt.

6) Bei der Nitrifikation in den Filtern findet ein Verlust an Stickstoff statt; dieser ist um so größer, je langsamer die Nitrifi-

kation verläuft. Es wirken daher in den Filtern bei Reinigung fauliger ammoniakhaltiger Wässer gleichzeitig neben den nitrifizierenden auch denitrifizierende Bakterien mit.

7) Die Oxydation der Schwefelverbindungen ist nicht oder doch nicht in dem Maße von der Mitwirkung von Bakterien abhängig, als die Oxydation des Ammoniakstickstoffes zu Stickstoffoxyden.

8) Die Oxydation der organischen Stoffe zeigt keine Regelmäßigkeiten; das hat seinen Grund darin, daß einerseits ein Teil derselben vorerst mechanisch in der Filtermasse zurückgehalten wird und dann bei einer darauf folgenden Filtration wieder in Lösung geht, daß andererseits die zu ihrer Bestimmung angewendeten Verfahren mangelhaft und ungenau sind. Der Glühverlust schließt auch Krystallwasser der Salze mit ein, durch Kaliumpermanganat werden nur die leicht oxydierbaren organischen Stoffe angezeigt, so daß ein filtriertes Schmutzwasser unter Umständen mehr Kaliumpermanganat zur Oxydation erfordern kann, als das ursprünglich ungereinigtes Wasser, obschon eine Spaltung und teilweise Oxydation schwer zerlegbarer organischer Stoffe in den Filtern stattgehabt haben kann.

Um zu erfahren, welchen Einfluß das natürliche Fließen des Wassers auf die Selbstreinigung ausübte, ließ Verf. das Fließen nachahmen. Es diente eine hierzu eigens konstruierte Rinnenvorrichtung, die auf eine Entfernung von 10 m, ein Gefälle von 0,115 m hatte. Der einzelne Wasserteil hatte in einem Falle einen Weg von 1980 m in 2 Stunden und 12 Minuten, im anderen Falle einen solchen von 3960 m in 4 Stunden 24 Minuten zurückzulegen. Zu den Versuchen wurde verwendet: Abortjauche, die im Verhältnis 1 : 10 bzw. 1 : 15 mit Leitungswasser verdünnt wurde, Abwasser der Stadt Münster, Wasser der Aa und Ammoniumkarbonatlösung.

Aus diesen Versuchen ergaben sich folgende Schlußfolgerungen: Eine Verminderung der gelösten organischen Stoffe beim künstlichen Fließen des Wassers auf 2–4 km durch die physikalisch-chemischen Wirkungen (Licht, Bewegung, Sauerstoff) ließ sich nicht nachweisen. Nur bei 7 km langem Fließen des natürlichen Aawassers war eine Verminderung der leicht oxydierbaren organischen Stoffe vorhanden, die nicht auf eine Verdünnung des Aawassers durch reines Wasser allein zurückgeführt werden kann. Ein direkter Einfluß der Bakterien auf die Abnahme der organischen Verunreinigungen und des Ammoniakgehaltes konnte nicht nachgewiesen werden.

Die Bewegung des Wassers als solche ist ohne Einfluß auf die Beseitigung der verunreinigenden Bestandteile. Dagegen nimmt der Ammoniakgehalt beim Fließen unter Zutritt von Luft und Licht sehr stark ab. Die Abnahme steht in einem gewissen Verhältnis zur Wasserverdunstung und ist demnach in erster Linie von den meteorologischen Verhältnissen abhängig. Es findet aber ohne Zweifel gleichzeitig auch eine Diffusion des flüchtigen Ammoniaks statt.

Eine nennenswerte Oxydation des Ammoniaks beim Fließen

des Wassers, sei es in künstlichen Rinnen, sei es im Flußbett, fand selbst nach Impfen mit Nitrifikationsbakterien nicht statt, dagegen konnte beim Fließen des Schmutzwassers an offener Luft eine Vermehrung der Schwefelsäure konstatiert werden.

Aus der Thatsache der Verdunstung bezw. Diffusion gasiger Bestandteile aus einem fauligen Gewässer läßt sich eine Reihe Erscheinungen erklären, wofür bis jetzt eine völlig befriedigende Erklärung fehlte, nämlich:

a) Daß in den verunreinigten Wässern durchweg keine freie Kohlensäure und nur wenig freies Ammoniak auftritt.

b) Daß die Flüsse unter Umständen erhebliche Mengen organischen Stickstoff aufnehmen können, ohne daß dieser sämtlich wieder in Form von Lebewesen oder Salpetersäure zum Vorschein kommt.

c) Daß die Selbstreinigung der Flüsse im Sommer und bei heiterem Wetter, sowie in Flüssen mit starker Stromgeschwindigkeit, in welchen Fällen die Verdunstungs- und Diffusionsverhältnisse sehr günstige sind, viel besser und schneller verläuft als bei kühler, feuchter Witterung und in Flüssen mit geringer Stromgeschwindigkeit.

Wenn organische Stoffe in ein Wasser gelangen und nachher bald verschwinden, so müssen sie vorerst eine Um- bezw. Zersetzung erfahren und diese wird allgemein der Lebensthätigkeit von Bakterien zugeschrieben, wie z. B. die Zersetzung der Proteinstoffe, Kohlehydrate, Zellfasern und dergl. Stoffe. Auch muß den Fadenbakterien und anderen Wasserpilzen eine kräftige Aufzehrung organischer Stoffe in einem verunreinigenden Wasser zugeschrieben werden, was schon daraus hervorgeht, daß sich diese Pilze (namentlich *Beggiatoa*) in stark verunreinigenden Gewässern, in großer Menge vorfinden.

Der Anteil der Algen an der Selbstreinigung wird verschieden geschätzt. Mit den Algen wetteifern die niederen Tiere, Protozoen, Rotatorien, Crustaceen, auch Insektenlarven in der Forträumung der organischen Stoffe.

Für höhere Pflanzen ist bis jetzt die saprophytische Ernährungsweise noch nicht festgestellt worden, weshalb hierüber einige Versuche angestellt wurden. Die Versuchspflanzen wurden in Nährlösungen gezogen, die als Stickstoffquellen einerseits Salpetersäure, Ammoniak und Stickstoff in verschiedener organischer Bindung, andererseits als Kohlenstoffquelle, Kohlensäure, Stärke oder Dextrinlösung enthielten. Zur Herstellung der verschiedenen Nährlösungen diente erst eine Nährsalzlösung, welche keinen Stickstoff oder Kohlenstoff enthielt, nämlich in 1 l:

56,2 g $MgSO_4$, 26,3 g KH_2PO_4 , 34,4 g KCl , 10 g $NaCl$, 2 g $Fe SO_4$ und 1 g $Mn Cl_2$. Anteile dieser Lösung wurden vermischt mit den oben genannten Stickstoff- und Kohlenstoffquellen. Als Kulturgefäße dienten sogenannte Nutschenfilter.

Aus den Versuchen ist folgendes erwähnenswert: Die Pflanzen *Elodea canadensis*, *Potamogeton crispus*, *Myriophyllum proserpinacoides*, *Ceratophyllum demersum*

können ihren Stickstoffbedarf aus organischer Quelle decken. Dasselbe gilt mit höchster Wahrscheinlichkeit auch für *Salvinia natans* und *Salvinia auriculata*.

Den Kohlenstoffbedarf können in kohlenstofffreien Lösungen aus organischer Quelle decken, die oben angeführten Pflanzen und und außerdem *Azolla caroliniana*.

Harnstoff scheint sich als Stickstoffquelle nicht zu eignen, wahrscheinlich wegen seiner giftigen Nebenwirkung.

Manche Pflanzen haben es in den rein anorganischen Lösungen nur zu einer kümmerlichen Entwicklung gebracht, es erscheint daher die Vermutung nicht unbegründet, daß diese Arten sich in hohem Grade an die halb saprophytische Lebensweise angepaßt haben. Es werden daher auch die höheren grünen Wasserpflanzen bei der Selbstreinigung der Gewässer mitwirken.

Reinmann (Hildesheim).

Sorauer, P., Schutz der Obstbäume gegen Krankheiten. (Zugleich 2. Auflage von Lucas, Schutz der Obstbäume gegen Krankheiten.) Mit 110 Figuren. Stuttgart (P. Ulmer) 1900. Preis 4,20 M.

Die Erkenntnis, daß die Prophylaxe der Krankheiten ihrer lokalen Bekämpfung vorzuziehen sei, beginnt auch in der Phytopathologie immer mehr Ausbreitung zu gewinnen. Gerade als Vorkämpfer für diese neueren Anschauungen muß Sorauer gelten; das vorliegende Buch ist ausschließlich aus diesem Gesichtspunkte heraus zu beurteilen.

In der Einleitung entwickelt er in klaren Worten das Programm des Buches. Es seien hier einige Sätze wiederholt: „Die Erfahrung, daß zahlreiche Krankheitserscheinungen durch unsere gewöhnlichsten, auf toten organischen Substanzen überall verbreiteten Pilzformen hervorgebracht werden, führt mit Notwendigkeit zu der Frage, woher es kommen mag, daß diese Schimmelformen nicht immer als Krankheitserreger unserer Kulturpflanzen gefährlich werden? Es müssen also in den Fällen, wo das lebendige Organ des Pflanzenleibes angegriffen wird, besondere begünstigende Nebenumstände wirksam sein. Mithin ist nicht das Vorhandensein des Pilzes, sondern die Erkenntnis und Entfernung der die Pilzansiedelung begünstigenden Umstände unsere Hauptsorge.“ Und weiter: „Deshalb halte ich bei vielen parasitären Krankheiten die lokale Bekämpfung für wenig wirksam und verspreche mir nur einen Erfolg durch gleichzeitige Eingriffe, welche die Entwicklung der Nährpflanze in der Richtung beeinflussen, daß sie ferner keinen so günstigen Mutterboden für den Parasiten darstellt.“

Gerade der Frost schafft in den meisten Fällen Prädisposition für Erkrankungen durch Parasiten. Verf. sieht deshalb in der richtigen Auswahl von frostharten Sorten und von solchen Varietäten, welche dem Klima der betreffenden Gegend angepaßt sind, den wesentlichsten Faktor zu einer Einschränkung der parasitären Krankheiten.

Die Darstellung des Stoffes ergibt sich aus den praktischen

Gesichtspunkten, die in den Vordergrund geschoben sind, von selbst.

Im ersten Teil wird der anatomische Bau des Stammes kurz geschildert und Wundbildung und Wundverschluß behandelt. Es werden die Krankheiten in allgemeiner Form besprochen und gleichzeitig die Bekämpfungsmittel angegeben. In einem besonderen Abschnitt weist Verf. auf die Bedeutung von wetterharten Lokalsorten hin.

Im zweiten Teil werden dann die einzelnen Obstpflanzen besprochen, und zwar folgende: Apfel, Birne, Quitte, Mispel, Kirsche, Pflaume, Pfirsich, Aprikose, Weinstock, Walnuß, Haselnuß, Erdbeere, Stachelbeere, Johannisbeere, Himbeere und Brombeere. Die Krankheiten werden in solche der Wurzeln und des Stammes, der Blätter und der Früchte eingeteilt und in dieser Reihenfolge ausführlich besprochen. Vorbeugungs- und Bekämpfungsmittel sind immer angegeben. Eine große Zahl guter Abbildungen erleichtert das Erkennen der Krankheit und das Verständnis des Textes ungemain.

Die Praxis wird aus dem Buche bedeutenden Vorteil ziehen, doch ist sein Nutzen auch für die Wissenschaft nicht hoch genug anzuschlagen, weil die Behandlung des Stoffes nach ganz bestimmten theoretischen Voraussetzungen erfolgt ist.

Lindau (Berlin).

Kulisch, Zur Bekämpfung des Oïdiums am Rebstock vor dem Austreiben desselben. (Landwirtschaftl. Zeitschrift für Elsaß-Lothringen. Jahrg. XXVIII. No. 17.)

Verf. bringt ein Mittel zur Kenntnis, das Schwindenhamer-Türkheim versuchsweise mit gutem Erfolg angewandt hat. Dasselbe besteht in einer Kupferkalkbrühe, bei welcher auf 50—60 l Wasser 500 g Kalk und 1200 g Kupfervitriol verwendet und der außerdem noch 500 g Schwefelpulver zugefügt wurde. Die Anwendung geschah in der Weise, daß die Schenkel und Gerten der Rebstöcke vor dem Austreiben von oben her mit einer Rebspritze mit wenig Pression bespritzt wurden.

Ob sich dies Mittel wirklich als zuverlässig erweisen wird, bleibt abzuwarten. Eine Kupferwirkung ist bis jetzt bei Oïdium noch nicht beobachtet worden, ebenso geht die derzeitige Ansicht über die Wirkung des Schwefels dahin, daß dieselbe erst bei höheren Temperaturen (über 15°) eintritt. Appel (Charlottenburg).

Sorko, Leop., Neuerungen auf dem Gebiete der Peronospora- und Oïdiumbekämpfung. (Die Weinlaube. Jahrg. XXXII. No. 8.)

Versuchsweise hat Verf. zur gleichzeitigen Anwendung von Kupfer und Schwefel eine Spritzflüssigkeit angewandt, die aus einer $\frac{1}{2}$ -proz. Kupferkalklösung bestand, der 2 Proz. Schwefel zugesetzt war. Um den Schwefel leichter und besser verteilen zu können, war derselbe vorher mit einer heißen 1-proz. Seifenlösung (20 l auf 6 Kilo Schwefel) angerührt worden. Immerhin macht es sich nötig,

eine Spritze mit Rührvorrichtung anzuwenden, da sonst die verspritzte Flüssigkeit einen zu ungleichmäßigen Gehalt an Schwefel hat. Der Erfolg war bei 4-maligem Spritzen, bei dem der Kupfergehalt nach und nach bis zu 1 Proz. gebracht wurde, ein voller, doch zeigten sich an einzelnen Stellen braun werdende Blätter, von denen Verf. nicht weiß, ob sie durch die Spritzflüssigkeit hervorgerufen werden; deshalb will Verf. die allgemeine Einführung erst dann empfehlen, wenn Versuche sicher bewiesen haben, daß die Flüssigkeit keine schädliche Nebenwirkung hat.

Interessant ist bei diesem Versuch, daß schon eine $\frac{1}{3}$ —1-proz. Kupferlösung genügend gegen Peronospora gewirkt hat, und daß Verf. berichtet, daß er seit 8 Jahren nur mit $\frac{1}{3}$ —1-proz. Kupferlösungen arbeitet und stets guten Erfolg erzielte.

Appel (Charlottenburg).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. ARTHUR WÜRZBURG,
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

- Duffey, Sir G.**, An address on the need of bacteriological and pathological laboratories in Dublin. (Brit. med. Journ. 1901. No. 2093. p. 334—335.)
Kräger, Ueber die neuesten Forschungen der landwirtschaftlichen Bakteriologie. (Jahrb. d. dtsh. Landwirtschafts-Ges. Bd. XV. Berlin 1900. p. 63—76.)
Novy, F. G., Bacteriology in its relations to public health. (Teacher's sanit. bullet. Vol. III. Lansing 1900. No. 8. p. 59—66.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

- Carrière, G.**, Sur l'existence d'un ferment soluble dans les cultures de bacilles de Koch. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1901. No. 11. p. 320—322.)
Irons, B. E., Some observations on methods for the detection of *B. coli communis* in water. (Journ. of the Boston soc. of med. science. Vol. V. 1901. No. 6. p. 343—344.)
Klein, A., Ueber Sporenfärbung. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXIX. 1901. No. 10. p. 442.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

- v. Aigner-Abaf, L.**, Zur Biologie der Agrotiden. (Allg. Ztschr. f. Entomol. 1901. No. 5. p. 72—74.)
Bokorny, Th., Die Fermentierungskraft der getrockneten Hefe. (Allg. Brauer- u. Hopfen-Ztg. 1900. No. 54. p. 625—626.)
Christomanos, A. A., Zur Farbstoffproduktion des *Bacillus pyocyaneus*. (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XXXVI. 1901. Heft 2. p. 258—269.)
Dévé, F., Sur la transformation des scolex en kystes échinocoociques. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1901. No. 11. p. 298—300.)
Emmerling, O., Synthetische Wirkung der Hefenmaltase. (Ber. d. dtsh. chem. Gesellsch. 1901. No. 4. p. 600—605.)
Giard, A., Sur deux champignons parasites des Cécidies. (Bullet. de la soc. entomol. de France. 1901. No. 3. p. 46—48.)
Guiart, J., Le trichocéphale et les associations parasitaires. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1901. No. 11. p. 307—308.)

- Hanriot**, Sur le mécanisme des actions diastatiques. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1901. No. 4. p. 67—70.)
- Henri, V.**, Influence du sucre interverti sur la vitesse d'inversion du saccharose par la sucrase. (Ibid. No. 11. p. 288—290.)
- —, Influence de l'addition, au milieu d'une réaction, de saccharose ou de sucre interverti sur la vitesse d'inversion par la sucrase. (Ibid. p. 290—292.)
- Kieffer, J. J.**, Remarque sur deux cécidomyies (Dipt.). (Bullet. de la soc. entomol. de France. 1900. No. 19. p. 383.)
- Klebahn, H.**, Kulturversuche mit Rostpilzen. IX. Bericht (1900). (Jahrb. f. wissenschaftl. Botan. Bd. XXXV. 1900. Heft 4. p. 660—710.)
- Kutscher, Fr.**, Chemische Untersuchungen über die Selbstgärung der Hefe. (Hoppe-Seyler's Ztschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXXII. 1901. Heft 1/2. p. 59—78.)
- Looss, A.**, Ueber einige Distomen der Labriden des Triester Hafens. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXIX. 1901. No. 9, 10. p. 398—405, 437—442.)
- Magnus, P.**, Ueber die auf alpinen Puccinien aus der Sectio Auriculastrum auftretenden Uredineen. (Ber. d. dtsh. botan. Gesellsch. 1900. Heft 9. p. 451—460.)
- Mesnil, F.**, Viviparité et parthénogénèse chez les annélides polychètes. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1901. No. 10. p. 270—271.)
- —, Remarques sur les polychètes d'eau douce, à propos des formes nouvelles du lac Baikal. (Ibid. p. 271—273.)
- Reh, L.**, Ueber die postembryonale Entwicklung der Schildläuse und Insektenmetamorphose. (Allg. Ztschr. f. Entomol. 1901. No. 4—6. p. 51—54, 65—68, 85—89.)
- Salmon, E.**, New or rare British fungi. (Journ. of the Quekett microsc. club. London 1900. Nov. p. 371—376.)
- Smith, A. L.**, Myxobacteria. (Journ. of botany Brit. and foreign. 1901. No. 458. p. 69—72.)
- Stempel, W.**, Zur Entwicklung von *Plistophora Mülleri* (L. Pfr.). [Vorl. Mitt.] (Zool. Anzeiger. 1901. No. 639. p. 157—158.)
- Sydow, H. u. P.**, Zur Pilzflora Tirols. (Oesterr. botan. Ztschr. 1901. No. 1. p. 11—29.)
- —, Fungi novi brasilienses a cl. Ule lecti. (Bullet. de l'Herbier Boissier. Vol. I. 1901. No. 1. p. 77—85.)
- Villar, J. M. D.**, La triquina espiral (*Trichina spiralis* Owen). (Bol. d. soc. española d. hist. nat. 1901. p. 137—142.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Boden.

- Remy, Th.**, Der augenblickliche Stand der Erdbakteriologie und unsere Aufgaben — ein Arbeitsprogramm. (Blätter f. Gersten-, Hopfen- u. Kartoffelbau. 1901. No. 1. p. 1—6.)

Luft und Wasser.

- Brunnthaler, J., Prowasek, S. u. v. Wettstein, E.**, Vorläufige Mitteilung über das Plankton des Attersees in Oberösterreich. (Oesterr. botan. Ztschr. 1901. No. 3. p. 73—82.)
- Hutchison, E. F.**, Die Verbreitung von Keimen durch gewöhnliche Luftströme. (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XXXVI. 1901. Heft 2. p. 223—253.)
- Migula, W.**, Compendium der bakteriologischen Wasseruntersuchung nebst vollständiger Uebersicht der Trinkwasserbakterien. gr. 8°. VII, 440 p. m. 2 Lichtdr.-Taf. Wiesbaden (Otto Nemnich) 1901. 9 M.
- Williams, G. S.**, Michigan water supplies. (Teachers' sanit. bullet. Vol. III. Lansing 1900. No. 9. p. 67—74.)

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

- Abel, B.**, Zum Kampfe gegen die Konservierung von Nahrungsmitteln durch Antiseptica. (Hygien. Rundschau. 1901. No. 6. p. 265—281.)

Milch, Molkerei.

- Johannessen, A.**, Om melkens sterilisation. (Norak magaz. f. laegevidensk. 1901. No. 1. p. 1—23.)

Bier, Brauerei.

Gabel, C. F., Ein Fortschritt im Pasteurisieren des Flaschenbieres. (Allg. Brauer- u. Hopfen-Ztg. 1900. No. 61. p. 701.)

Wein, Weinbereitung.

Brunet, R., Des maladies et altérations des vins. (Journ. d'agricult. prat. 1901. No. 5. p. 151—153.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

Baldassari, L., Sul contenuto microbico e sulla resistenza dei germi patogeni in alcuni oli. (Giorn. d. r. soc. ital. d'igiene. 1901. No. 2. p. 66—71.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

Calmotte, A., Les procédés biologiques d'épuration des eaux résiduaires. (Rev. d'hygiène et de police sanit. 1901. No. 3. p. 216—240.)

Dünkelberg, Die Technik der Reinigung städtischer Abwässer, im besonderen die sogenannte bakteriologische Methode. (Techn. Gemeindebl. 1900. No. 24. p. 369—371.)

Houston, A. C., The bacterial treatment of London crude sewage at Barking and Crossness. (Edinburgh med. Journ. 1901. Febr. p. 129—145.)

Launay, F., L'épuration bactérienne des eaux d'égout. Rapport de mission en Angleterre (novembre 1900). (Rev. d'hygiène et de police sanit. 1901. No. 3. p. 240—245.)

Quensal, U., Om den s. k. biologiska metoden för smutsvattens renande. (Upsala läkareför. förhandl. 1900/01. Häft 1. p. 47—71.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Harmlose Bakterien und Parasiten.

Nobbe, F. u. Hiltner, L., Ueber den Einfluß verschiedener Impfstoffmengen auf die Knöllchenbildung und den Ertrag von Leguminosen. (Landwirtschaftl. Versuchs-Stat. 1901. Heft 1/2. p. 141—148.)

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

Bourgne, A., A propos des taupes. (Journ. de la soc. agric. du Brabant-Hainaut. 1900. p. 898—900.)

Cattie, Th., Kleiner Beitrag zur Kenntnis der Aelchenkrankheiten der Farnkräuter. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XI. 1901. Heft 1. p. 34.)

Covidalli, A., Policotilia ereditaria ed anomalia varie nel Phaseolus vulgaris L. (Estr. d. Atti d. soc. d. naturalisti e matemat. di Modena. Vol. II. Ser. 4. 1900. p. 278—289.)

Dorsett, F. H., Spot disease of the violet. (Alternaria violae n. sp.) (U. S. Departm. of Agricult. Divis. of veget. physiol. and pathol. Bullet. No. 23. 16 p. gr. 8°. Washington 1900.)

Eschbach II, W., Zur Heu- und Sauerwurmfrage. (Mitt. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. 1901. No. 1. p. 7—8.)

Gross, E., Bekannte, aber noch zu wenig angewandte Mittel zur Bekämpfung des Unkrautes. (Fühling's landwirtschaftl. Ztg. 1901. Heft 1, 2. p. 25—29, 58—62.)

Hofer, J., Nematodenkrankheit bei Topfpflanzen. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XI. 1901. Heft 1. p. 35—36.)

Jones, L. E., Certain potato diseases and their remedies. (Vermont agricult. experim. station, Burlington, Vt. Bullet. Burlington 1899. No. 72.) 8°. 32 p.

Kölpin Bawn, F., Ueber einige Helminthosporium-Arten und die von denselben hervorgerufenen Krankheiten bei Gerste und Hafer. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XI. 1901. Heft 1. p. 1—26.)

de Nobele, L., Le radis noir et ses ennemis. (Bullet. d'arboricult. et de floricult. potagère. 1900. p. 270—272.)

Parmentier, P., Sur la maladie des sapins d'Arcsous Cicon (Doubs). (Inst. bot. univers. Besançon. 1900. No. 7. p. 1—7.)

Ritzema Bos, Die Hexenbesen der Kakaobäume in Surinam. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XI. 1901. Heft 1. p. 26—30.)

- Simáček, J.**, Die Fürst Ferdinand Lobkovic'schen Weingärten in Unter-Berkovic bei Melnik im Jahre 1900. (Allg. Weinstg. 1901. No. 2, 3. p. 12—14, 21—22.)
- Smith, E.**, Un nouveau genre de champignon (Neocosmospora) qui constitue un redoutable fléau pour le cotonnier, la citrouille et la Vigna sinensis. Extr. par R. Ferry. (Rev. mycol. 1900. No. 88. p. 121—124.)
- Steglich, B.**, Untersuchungen und Beobachtungen über die Wirkung verschiedener Salzlösungen auf Kulturpflanzen und Unkräuter. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XI. 1901. Heft 1. p. 31—33.)
- Stift, A.**, Ueber Milben in Rübenwurzelkröpfen. (Oesterr.-ungar. Ztschr. f. Zuckerindustr. u. Landwirtsch. 1900. Heft 6. p. 857—860.)
- Wappes**, Die Bekämpfung der Kieferschütte mit Kupfersalzlösungen. (Vierteljahrsh. d. Bayer. Landwirtschaftsrates. 1900. Heft 4. p. 527—544.)
- Weiss, E.**, Die Pockenkrankheit der Birnenblätter. (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1901. Heft 1. p. 7—8.)
- Zirngiebl, H.**, Zwei Grünrüssler an Obstbäumen. (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1901. Heft 1. p. 3—4.)
- Zschokke, A.**, Neuere Erfahrungen bezüglich der Bekämpfung des Heu- und Sauerwurms. (Mitt. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. 1901. No. 1. p. 3—7.)

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

- Audebert, O.**, Un nouveau mode d'emploi du sulfure de carbone contre le phylloxera. (Journ. d'agricult. prat. 1901. No. 3, 4. p. 96—98, 119—123.)
- Verfahren zur Herstellung eines pilztötenden Mittels für Kulturpflanzen. Von der Bayer. Aktien-Ges. f. chem. u. landwirtsch.-chem. Fabriken in Heufeld. K. k. österr. Patent vom 6. Oktober 1899, No. 2775. (Oesterr.-ungar. Ztschr. f. Zuckerindustrie u. Landwirtsch. 1901. Heft 1. p. 60—61.)
- Zschokke, A.**, Ueber die Behandlung verseuchter Weingärten mit Calciumcarbid. (Weinbau u. Weinhandel. 1901. No. 1. p. 9.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

- Pakes, Walter C. C.**, On the value of plating as a means of determining the number of Bacteria in drinking water. (Orig.), p. 386.
- Severin, S.**, Die im Mist vorkommenden Bakterien und deren Rolle bei der Zersetzung desselben. (Orig.), p. 369.

Referate.

- Ewart, E.**, Einige der Blutlaus ähnliche Pflanzenläuse, p. 404.
- Hahn, M. und Geret, L.**, Ueber das Hefe-Endotrypsin, p. 394.
- Schorler, E.**, Beiträge zur Biologie der verunreinigten Wasserläufe. Die Mikroflora und -fauna der Elster und Luppe, p. 396.
- Serkowaki, St.**, Ueber den Bau der Bakterienkolonien, p. 391.
- Verson, E.**, Un' affezione parassitaria del filugello non descritta ancora, p. 405.
- Woronin, M.**, Ueber Sclerotinia cinerea und Sclerotinia fructigena, p. 399.

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

- Du Rei**, Ueber die Erhitzung der Vollmilch oder deren Nebenprodukte in den Sammelmolkereien, p. 407.
- Jundell, J.**, Ny apparat för bakteriernas oskadliggörande i mjölk och dess hygieniska betydelse enligt undersökning vid applikation till G. Salenii radiator. [Neuer Apparat zum Unschädlichmachen der Bakterien in Milch und dessen hygienische Bedeutung nach Untersuchung bei Applikation an dem Radiator von G. Salenius], p. 406.
- König, J.**, Beiträge zur Selbstreinigung der Flüsse, p. 408.
- Kullsch**, Zur Bekämpfung des Oidium am Rebstock vor dem Austreiben desselben, p. 412.
- Sorauer, F.**, Schutz der Obstbäume gegen Krankheiten, p. 411.
- Sorko, Leop.**, Neuerungen auf dem Gebiete der Peronospora- und Oidiumbekämpfung, p. 412.

Neue Litteratur, p. 413.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Prof. Dr. J. Behrens in Weinsberg i. W.,
Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Dr. v. Freudenreich in Bern, Privatdocent
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Dr. G. Harris Morris
in London, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädenswil, Dr. Erwin F. Smith in
Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr.,
Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel
und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Berlin

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VII. Band.

Jena, den 30. Mai 1901.

No. 12.

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Zur Frage der chemischen Reizmittel.

Die Rolle des Zn und Cu bei der Ernährung von *Aspergillus niger*.

Von **Andreas Bichter**, Assistenten am pflanzenphysiolog. Laboratorium der Universität St. Petersburg.

Mit 2 Figuren.

Es sind jetzt 30 Jahre her, daß Raulin in seiner klassischen Arbeit „*Etudes chimiques sur la végétation*“⁽¹⁾ als erster die Zink-

1) Annales des sc. nat. S. V. T. XI. 1869. p. 93.

salze in seine Nährlösung — milieu type — einführte; die Einführung des Zn, als unentbehrlichen Elements zur Bildung der besten physisch-chemischen Bedingungen für das Leben des Pilzes, war auf eine ganze Reihe von streng konsequenten und philosophisch begründeten Versuchen basiert, wobei von vornherein angenommen wurde, daß das erhaltene größte Trockengewicht der Pilzernte sein physiologisches Optimum bezeichnet. Das Fehlen, wenn auch nur eines der Elemente der Lösung, bedingt sofort ein bedeutendes Sinken der Ernte, aber die Entwicklung des Pilzes geht dennoch weiter, und schließlich erhalten wir ein, wenn auch unbedeutendes, so doch merkbares Quantum des Trockengewichtes. Raulin erklärt dieses damit, daß die Pilze, auch bei vollständiger Reinheit der Salze, aus welchen die Lösung gemacht war, dennoch in den Gefäßwänden und in zufällig hineingelangtem Staube eine genügende Menge der fehlenden Elemente finden, um sich, wenn auch ungenügend, zu entwickeln. — Daraus folgert Raulin ganz logisch, „daß die in minimalen Mengen in der Lösung enthaltenen Elemente (Fe, Zn, Si) nicht nur nützliche Reizmittel darstellen, ohne welche der Pilz unter Umständen auch sich entwickeln könnte, sondern, daß sie alle, gleichwie Stickstoff, Schwefel und Phosphor, unentbehrlich sind, sogar Zn, sogar Fe“.

Die Arbeit von Raulin wird auch wohl bis jetzt, und mit Recht, als klassisch anerkannt, die Formel seines „Liquide Raulin“ ist in alle Handbücher übergegangen und wird bei fast allen Arbeiten über *Aspergillus niger* benützt, aber die Anschauung über die Rolle des Zn bei der Ernährung des Pilzes hat sich radikal verändert: Dieses Metall, ebenso wie auch viele andere — Mn, Co, Ni, Si etc. — schließt sich an eine allgemeine, die Entwicklung des Organismus stimulierende Gruppe von Stoffen an, welche entweder dem Organismus erlauben, ökonomischer zu arbeiten (Pfeffer) oder eine Reizwirkung ausüben, wodurch wir eine Ernte des Pilzes „über normal“ erhalten. Alle diese Reizmittel haben, bei einer gewissen Konzentration, gewöhnlich die Wirkung von Giften, und bloß bei Vergrößerung ihrer Verdünnung gelangen wir zu solchen verschwindenden Mengen der Salze, welche den analytischen Handgriffen des Chemikers unerreichbar — von unserem physiologischen Reaktiv — dem Organismus — aber noch deutlich empfunden werden. Zum Typus dieser Reizerreger gehört auch das von mir gewählte Metall — das Zink.

Die Untersuchungen über dieses Metall, als Reizerreger oder richtiger gesagt, die Notizen hierüber, sind in den Arbeiten einer ganzen Reihe von Gelehrten zerstreut: Pfeffer¹⁾, Molisch²⁾, Wehmer, Benecke³⁾, Naegeli⁴⁾ und viele Andere haben, sozusagen im Vorübergehen, die Frage über die reizende Wirkung

1) Elekktion der organ. Nährstoffe. (Pringsh. Jahrb. Bd. XXVIII. 1895.)

2) Die mineralische Nahrung der niederen Pilze. (Sitzungsb. der Wiener Akademie. 1894.)

3) Die zur Ernährung der Schimmelpilze notwendigen Metalle. (Pringsh. Jahrb. Bd. XXVII. 1895.)

4) Ueber oligodynamische Wirkungen. 1893.

des Zn gestreift; systematischer ist diese Frage von zwei Botanikern bearbeitet, von Richards (Pfeffer's Schüler) und dem Japaner Ono.

Ich verweile ein wenig bei den letzten zwei Arbeiten. Richards¹⁾ hatte sich die Untersuchung der Einwirkung verschiedener Konzentrationen von Metallsalzen, darunter auch des Zn und einiger anderer Stoffe, auf die Entwicklung der Schimmelpilze zur Aufgabe gestellt. In einer langen Reihe von Versuchen, bei Benutzung verschiedener Reizmittel, erhielt Richards eine Zunahme des Trockengewichtes des Pilzes, welchen Umstand er, zugleich mit dem anormalen Aussehen des Myceliums, als einen Beweis für die reizende Wirkung des Salzes hält; aber vergeblich würden wir bei ihm Hinweise zur Bestimmung der Lage des Verdünnungsoptimums bei diesem Reizmittel suchen. Die von ihm erhaltene Zunahme des Trockengewichtes bestätigt und erweitert bloß die Versuche von Raulin, aber auch nichts weiter, ein vollständiges Bild über die Grenzen und den Gang der reizenden Einwirkung in Abhängigkeit von der Konzentration giebt Richards nicht. Andererseits stören die bei der Ausführung seiner Versuche eingeschlichenen Fehler stark die Bedeutung seiner Resultate; daraufhin weist schon das kolossale Schwanken des Trockengewichtes (bis zu 80 Proz.) des in ein und derselben Lösung, bei ein und denselben Bedingungen gewachsenen Pilzes.

Unter anderem erinnern wir bloß daran, daß Raulin bei seiner unvollkommenen Methode (damals war noch kein Gedanke an Reinkulturen) einen Fehler von Maximum $\frac{1}{20}$ des Gewichtes, d. h. bloß 5 Proz., zugeibt. Es ist auch nicht schwer zu sehen, daß die Versuche von Richards unter verhältnismäßig ungünstigen Umständen gemacht wurden. Die bei seinen Versuchen benutzten konischen Gefäße (Erlenmeyer'sche Kolben) waren so klein (125 ccm), daß auf 50 ccm Nährlösung bloß 75 ccm innere Atmosphäre kamen; dabei aber besteht schon Raulin besonders auf der Notwendigkeit der ungehinderten Aëration des Myceliums. Es ist natürlich, daß Richards, mit seinen an Sauerstoff Mangel leidenden Pilzen arbeitend, anormale, sozusagen pathologische Trockengewichtsmengen erhielt; und in der That, die von ihm erhaltenen Maxima des Trockengehaltes von *Aspergillus* (auf die Raulin'sche Lösung übergeführt) übersteigen gewöhnlich nicht 19 g; bloß in einem Fall erhielt er 25,5 g, d. h. ebensoviel wie Raulin.

Die Arbeit von Ono²⁾ ist in jeder Beziehung bloß eine Ausarbeitung der Richards'schen. In den Kreis seiner Versuche sind, außer den Schimmelpilzen, *Aspergillus* und *Penicillium* noch Reinkulturen von Algen zugezogen, aber es wiederholen sich dieselben Fehler, wie bei seinem Vorgänger; die Kleinheit der Gefäße und infolgedessen schlechte Aëration, die lange Dauer der

1) Die Beeinflussung des Wachstums einiger Pilze durch chemische Reize. (Pringsh. Jahrb. Bd. XXX. 1897.)

2) The Journal of the College of Scienc. Imp. Univ. of Tokyo. Vol. XIII. P. 1. 1900. p. 141.

Versuche (14—28 Tage), eine Dauer, die nur dadurch gerechtfertigt werden kann, daß die Temperatur zu niedrig und stark wechselnd war; alle diese Umstände mußten sich notwendigerweise auch in den Resultaten der Versuchsserien bemerklich machen und nicht vergleichbare Zahlen für das Trockengewicht des Pilzes geben; in einer Serie (A. IV) erhielt er sogar keine Reizwirkung, was der Autor auch aufrichtig gesteht, nicht erklären zu können. Konzentrationen wechseln nur in engen Grenzen von $\frac{1}{8}$ 10³ bis 10⁵ g moll. in Litr.

Die Litteratur der Kupfersalze ist viel zahlreicher, aber noch mehr zerstreut und zufälliger, als die des Zn; wir begegnen hier einer an Umfang bedeutenden Litteratur über den Einfluß der Antiseptica auf die Gärung (Biernacki¹⁾, Lafar²⁾ u. A.), einer ganzen Reihe von Notizen und Arbeiten über den Einfluß des Cu als Bestandteil der Bordeaubrühe³⁾; ich erinnere hier noch an das posthume Werk von Nägeli „Ueber oligodynamische Erscheinungen in den lebenden Zellen“, welches seiner Zeit viel Interesse erregt hatte.

Aber in der mich interessierenden eng begrenzten Frage über die quantitative Rolle der Cu-Salze als Reizerreger im Leben der Schimmelpilze kann ich bloß auf Raulin⁴⁾ hinweisen, welcher gefunden hat, daß CuSO₄ in einer Dose von $\frac{1}{240}$ giftig ist, in größeren Verdünnungen aber keine merkliche Einwirkung zeigt, und auf die Japaner Ono⁵⁾ und Hattori⁶⁾, welche gezeigt haben, daß die Cu-Salze (Cu SO₄) in allen Konzentrationen auf die Zellen der Wasserpflanzen giftig, in Verdünnungen von 0,004 bis 0,008 Proz. auf die Entwicklung der Schimmelpilze stimulierend⁷⁾ einwirken, und sozusagen, zur allgemeinen Gruppe der chemischen Reizerreger gehören, worauf übrigens früher schon Pfeffer hingewiesen hat⁷⁾.

Schließlich muß ich noch unbedingt der ausgezeichneten Arbeit des Amerikaners Stevens⁹⁾ gedenken, welcher sehr ausführlich und umständlich die Einwirkung der Lösungen verschiedener Salze auf das Wachsen der Pilzsporen untersucht hat; als unterste Grenze der Verdünnung, welche noch ein Wachstum zuläßt, ist für Cu-Salze auf $\frac{1}{2000}$ der Normallösung bestimmt worden.

Indem ich mir als Hauptaufgabe die Untersuchung der Einwirkung der Zn- und Cu-Salze auf den Pilzorganismus in einer langen Reihe von Konzentrationen gestellt habe, ergibt sich dadurch von selbst die Notwendigkeit, nicht nur eine Reihe von Versuchen, sondern ganze Serien solcher Versuche zu machen;

1) Pflüger's Archiv. 1891. XLIX.

2) Landw. Jahrbücher. 1894.

3) Rumm, Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. Bd. XI. 1893. p. 709, ebendas. 445.

4) loc. cit.

5) loc. cit.

6) Untersuchungen über die Einwirkung des Kupfersulfates auf Pflanzen. (Bot. Centralbl. Bd. LXXX. p. 171.)

7) Ich füge bei, recht schwach und fraglich.

8) Pflanzenphysiologie, II. Aufl. Bd. I. p. 408.

9) The effect of aqueous solutions upon the germination of fungus spores. Bot. Gazette. 1898. p. 377—406.)

um aber unter den gegebenen Bedingungen irgendwelche vergleichbare Resultate zu erhalten, ist ein äußerst strenges Korrespondieren aller Elemente der Versuche bei einem sich ändernden Komponenten notwendig; namentlich streng muß diese Uebereinstimmung bei Versuchen mit Organismen durchgeführt werden, da dieselben Reagentien von außerordentlich hoher und verschiedenartiger Sensibilität vorstellen, durch Veränderungen ihrer Lebensfunktionen auf die verschiedenartigsten Reize der Umgebung reagierend.

Eine solche Sensibilität besitzt, trotz seiner Anspruchslosigkeit, der Pilz *Aspergillus niger*; abgesehen von der Zusammensetzung der Nährflüssigkeit, haben die Temperatur, das Licht, die umgebende Atmosphäre einen ausgesprochenen Einfluß auf die Schnelligkeit des Wachstums und die Größe des Trockengewichtes des Myceliums, und alles muß bei Versuchen über den Einfluß einer Komponente in Rechnung genommen und ausgeglichen werden. Bester Beweis der richtigen Ausführung dieser Aufgabe, d. h. der Gleichheit aller Versuche, wird in den Resultaten ein annäherndes Zusammenfallen der erhaltenen Zahlen sein.

Inwieweit die bei den Versuchen unternommenen Vorsichtsmaßregeln den Erwartungen entsprochen haben, kann man aus den am Schluß dieser Abhandlung beigefügten Tabellen ersehen¹⁾.

Der Gang der Experimente war im allgemeinen folgender: Reinkulturen von *Aspergillus niger* wurden in breiten, von gleichem Typus und gleicher Größe, konischen Glaskolben vorgenommen; der Durchmesser der Kolbenböden mußte eine solche Größe haben, daß die Dicke der Schicht der Nährflüssigkeit (100 ccm) nicht mehr wie 1 cm betrug, die innere Atmosphäre der Kolben näherte sich einem halben Liter, und korrespondierte mit der äußeren durch Wattepfropfen, auf deren gleichmäßige Wickelung aus gleichen Wattestücken besondere Sorgfalt verwandt wurde. Außerdem gingen diese Pfropfen aus einer Serie in die andere über, auf diese Weise eine gleichmäßige Filtration der Gase sichernd; das Licht war ausgeschlossen, die Temperatur (Thermostat) schwankte zwischen 30 und 31° C. Die Nährlösung (nach der Formel von Raulin mit Ausschluß von K^2SiO^5) wurde auf einmal in großen Quantitäten aus konzentrierten Lösungen chemisch reiner Salze und Zuckerraffinade angefertigt, mit einer Pipette in die Kolben je 100 ccm gegossen und 15' bei 120° C im Autoklaven sterilisiert. Die Versuchsmengen der Zn- und Cu-Salze (schwefelsaure) wurden mit einer Pipette vor der Sterilisation eingeführt.

Die Aussaat geschah immer auf ein und dieselbe Weise, und zwar je 3 Tropfen destillierten und sterilisierten Wassers mit einer Pilzsporenmenge gemischt, welche mit einer Platinöse aus einer gewöhnlichen, 4 Tage alten Kultur von *Aspergillus niger* (ohne Reizerreger) genommen wurde.

An Stelle der von einigen Autoren empfohlenen Paraffinierung

1) Z. B. Versuch 2 (Serie C) und No. 5 (Serie D) — Trockengewicht 1,1744 . 1,1394 g. Differenz 0,0350 g, d, h. 3 Proz. vom Minimalgewicht.

der Gefäße oder einer Behandlung derselben mit strömendem Dampf (Ostwald) wurde hier vorhergehende Sterilisation der Kolben, im Verlauf von 30', mit der sauren Versuchsnährflüssigkeit angewandt. Die Bestimmung des Trockengewichtes wurde auf die gewöhnliche Weise ausgeführt.

Bevor wir zur Untersuchung der Frage über die Grenzen der reizenden Konzentrationen der schwefelsauren Zn-Salze übergehen, müssen wir uns noch bei der Bestimmung der notwendigen Dauer des Versuches aufhalten; Raulin erhielt seine 25 g des Trockengewichtes bei der 2maligen Ernte auf $1\frac{1}{2}$ l Lösung im Verlaufe von 6 Tagen, Richards kultivierte seine Pilze 5—8 Tage.

Diese Frage ist insofern von Bedeutung, weil wir, bloß wenn wir die Erntemaxima entdecken, ein Recht haben, über eine erhöhende oder andere Wirkung des Reizerregers zu urteilen; eine zu kurze oder zu lange Dauer des Versuches führt uns zu einem einseitig unrichtigen Resultate. Im ersten Falle kann der Pilz die Nährlösung nicht vollständig ausnutzen und das Maximum eines Trockengewichtes nicht erreichen, im zweiten Falle wird er, nachdem er allen in der Lösung enthaltenen Zucker gespalten, auf Kosten seines eigenen Myceliums leben und folglich an Gewicht verlieren.

Und in der That, werfen wir einen Blick auf die Serien A und B. Bei einer Dauer von 12 und 10 Tagen, bei Verdünnungen von 6000—200 000 und darüber (Liter auf Gramm Molekel) schwankt das Trockengewicht unbedeutend um 1 herum (0,9414—1,1704), nicht die geringste Erhöhung unter Einfluß der Zn-Salze zeigend, obschon die Konzentrationen des Zn-Salzes mit Konzentrationen schlossen, welche nahe an die von Raulin angegebene (6000 l) heranreichten.

Serie C, mit 2 Reihen von Versuchen, 4 und 6 Tage dauernd, zeigt uns sofort, worum es sich handelt. Während die Kulturen in den Nährflüssigkeiten ohne Erreger in den 2 überzähligen Tagen von 1,1098—1,744 (6 Proz.) gewachsen waren, hatten alle Zn-Kulturen an Gewicht verloren; je mehr Zn vorhanden war, desto ausgesprochener war das Fallen des Gewichtes, welches schließlich fast zu ein und denselben Zahlen führte (1,5352—1,6604).

Sehr natürlich ist daher die Annahme, daß das Zink, die Lebensfunktionen in den Pilzzellen beschleunigend, nicht nur auf die Assimilation der Nährstoffe fördernd wirkt, sondern in einer gewissen Periode auch auf die Desassimilation, und infolgedessen das Fallen des Trockengewichtes des Pilzes begünstigt. Serie D beweist, wie mir scheint, die Richtigkeit dieser Annahme.

Die Kurven des Trockengewichtes (s. das Diagramm) des Pilzes in Lösungen ohne Zink und mit Zink in Konzentrationen von 700 000 (Lit. auf Gramm-Molekel) gehen bis zum Ablauf von 2 Tagen, bloß wenig divergierend, zusammen, aber am 3. Tage macht die Zn-Kurve einen mächtigen Sprung nach oben, am 4. Tage das Maximum des Trockengewichtes — 2,0160 g — erreichend, um am 5. Tage wieder rasch zu sinken, sich wieder der Kurve des Trockengewichtes des Pilzes ohne Zn nähernd, welche um diese

Zeit ihr eigenes Maximum — 1,2780 g — erreicht, und ebenso, aber viel weniger, sich zur Horizontalachse neigt. Die detaillierte Untersuchung des in den Tabellen und dem Diagramm vorgeführten Falles kann, wie ich annehmen darf, viel Licht in jene dunkeln Gebiete bringen, mit welchen unsere Begriffe über die Wirkung der Reizerreger auf den Organismus verbunden sind.

Indem ich mir die weitere Bearbeitung des demonstrierten Falles vorbehalte, erlaube ich mir, auf zwei interessante Tatsachen hinzuweisen: 1) In Lösungen ohne Reizerreger, „Normallösungen“, ist das Wachstum des Pilzes mit einer sehr regelmäßigen Verarbeitung des Zuckers verbunden; wie aus dem Diagramm zusehen ist, nähert sich

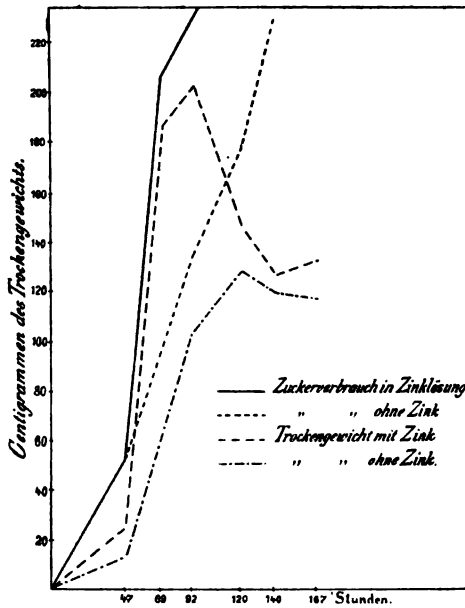


Fig. 1.

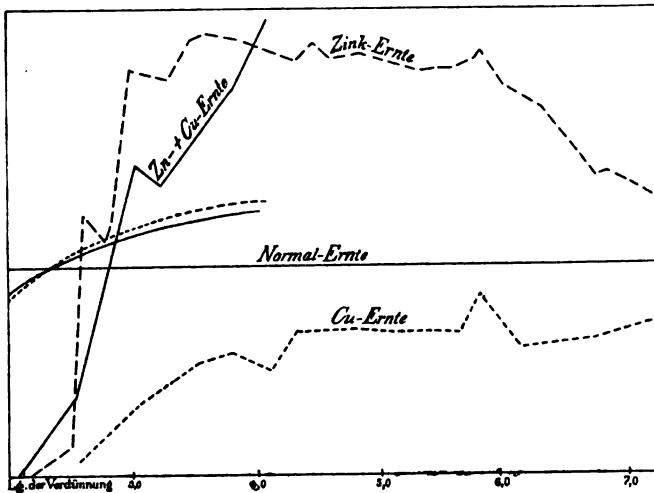


Fig. 2.

die Kurve der Verarbeitung dieses nahrhaften Materials fast vollständig der Geraden.

2) Der Reizerreger, die Assimilationsarbeit in dem Wachstum des Trockengewichtes des Pilzes in den ersten 3 Tagen erhöhend, schließt gleichzeitig das Auftreten von Sporen fast vollständig aus; während das normale, nicht gereizte Mycelium schon am 2. Tage die gewöhnlichen schwarzen Fruchträger bildet, giebt dagegen der stimulierte Pilz erst am 3. Tage wenig zahlreiche, schwach gefärbte Fruchträger. Aber gleich darauf, am 4. und 5. Tage, ist der Pilz, als ob er sozusagen die versäumte Zeit einholen wollte, schon vollständig mit Sporen bedeckt. Man gewinnt den Eindruck, daß die Anwesenheit von Zn-Salzen in der Nährlösung, den Verbrauch von Mycelium zur Sporenbildung einschränkend, die Möglichkeit zur Utilisierung der ganzen Zuckermenge zur Erhöhung des Trockengewichtes giebt, aber die darauf eintretende Funktion der Fruchträgerbildung den erworbenen Ueberschuß zu Trockengewicht sozusagen vernichtet und dasselbe zum gewöhnlichen, normalen Horizont zurückführt.

Bei der angeführten Serie von Versuchen nicht länger verweilend, gehen wir zu den Serien E und F über, bestehend aus einer Reihe von Versuchen (27 und 19) mit verschiedenen Mengen von Zn- und Cu-Salzen in der Nährlösung. — Die zur Erreichung des Maximums des Trockengehaltes notwendige Zeitdauer wurde in der Mehrzahl der Versuche durch gleichzeitige Parallelkulturen bestimmt und in den Tabellen angemerkt (für Zn von 4—9 Tage, für Cu von 5—6 Tage). Die Resultate sind in Form einer Kurve auf dem Diagramm veranschaulicht.

Die Gerade A A stellt jenen „normalen“ Horizont vor, auf welchem sich das Trockengewicht des Pilzes bei den gewöhnlichen Bedingungen der Kulturen in Raulin'scher Lösung, ohne irgend welche Stimulantia, hält. — Die Linie Zn, ihren Anfang auf der Achse der Abscisse, d. h. auf der Linie des Nullwachstums, nehmend, drückt die Veränderung des Trockengewichtes des Pilzes — Ordinaten — bei den korrespondierenden Schwankungen in der Zusammensetzung der Nährlösung aus. (Hierbei werden die Verdünnungen der Salze nicht direkt auf die Horizontalachse eingetragen, sondern ihre Logarithmen.)

Genau ebenso ist die Linie Cu gezeichnet, sie zeigt die Schwankungen im Wachstum von *Aspergillus* in der Raulin'schen Lösung ohne Zn-, aber mit Cu-Salzen verschiedener Konzentration.

Der verschiedene physiologische Effekt der Zn- und Cu-Salze ist in der Zeichnung scharf ausgeprägt; während die Cu-Salze in allen Verdünnungen, von 125—150000000, das Wachstum des Pilzes unter normal halten, also bloß schädliche, aber niemals stimulierende Agentien vorstellen, bilden die Zn-Salze, in Verdünnungen unter 600 l allerdings stark giftig wirkend, in starken Verdünnungen kräftige Stimulantia, welche das Wachstum des Pilzes über normal halten, ja verdoppeln (normal 1,0464, stimuliert durch Zn 2,1404). Beide Kurven des Trockengewichtes neigen sich sozusagen bei Erreichung der Maximalverdünnungen zur Geraden des Normal-

wachstums, damit zugleich beweisend, daß die Anwesenheit der Metalle in der Lösung für die Pflanze fast unfühbar ist.

Die durch diese Versuche bewiesenen Facta stimmen vollständig mit dem überein, was die früheren Forscher gefunden haben, d. h. was die Zn-Salze anbetrifft; anders verhält es sich mit den Cu-Salzen. Wie schon früher angeführt war, weist Raulin darauf hin, daß das Kupfervitriol bloß bis zu einer gewissen Verdünnung giftig wirkt, über diese hinaus aber seine Wirkung nicht mehr bemerkt wird; die japanischen Gelehrten Ono und Hattori halten das Cu für ebenso ein Reizmittel wie das Zn.

Die Kurve Cu-Zn, die Trockengewichte von *Aspergillus* bei gleichzeitigem Vorhandensein von Kupfer- und Zinksalzen in der Lösung vorstellend, giebt, wie mir scheint, eine klare und vollständige Antwort auf diese Meinungsverschiedenheit. Es ist unzweifelhaft, daß Raulin, eine Lösung von Kupfersalz zu seinem „milieu type“ zusetzend, es mit der gleichzeitigen Wirkung zweier Metalle auf den pflanzlichen Organismus zu thun hatte, und in der That, schon bei Gehalt der Lösung an Zink in der Verdünnung von 20000 l, ist die Wirkung eines Grammmolekel Cu auf 1125 l nicht mehr zu merken, wird sozusagen von der stimulierenden Wirkung des Zn vollständig paralytisiert.

In den Arbeiten von Ono und Hattori sind, parallel mit den ausgesprochen giftigen Wirkungen des Cu auf die Algen, die Angaben über die Wirkung desselben auf die Pilze durch ihre Verworrenheit und Veränderlichkeit nach beiden Seiten nicht überzeugend (Serie E, 1 und 2).

Wir haben also sozusagen in dem Cu und Zn 2 Typen von chemischen Reagentien auf das pflanzliche Objekt: Das Kupfer immer depressierend, das Zn depressierend bloß in starken Konzentrationen, in schwachen Lösungen dagegen wirkt es als energischer Reizerreger, Stimulator.

Die Wirkungskurve des letzteren Agens stellt eine charakteristische, zur Abscissenaxe konvexe Kurve dar, welche schnell, entsprechend der Stärke der chemischen Wirkung, sich derselben nähert.

Eine solche Form der Reizungskurve ist eine allgemeine (Pfeffer u. A.) für alle Reizerreger sowohl chemischen als auch physischen Charakters: in großen Dosen Gift, in kleinen nützliche, erregende Wirkung.

Indem ich es nicht auf mich nehme, allgemeine Schlüsse für das ganz kolossale Gebiet der Reizerscheinungen zu ziehen und wie früher, bei zu eng begrenzter Sphäre der Einwirkung der Zn- und Cu-Salze auf das Wachstum des Trockengewichts bei *Aspergillus niger* bleibe, scheint es mir notwendig, eine wesentliche Zurechtstellung bei dieser Grundansicht zu machen, und in der That, die nähere Bekanntschaft mit den in sehr verdünnten Lösungen auftretenden Erscheinungen weist auf einen unzweifelhaften und bedeutenden Unterschied in dem Zustande des aufgelösten Stoffes hin im Vergleich mit den Lösungen von hoher Konzentration. Dieser Unterschied, welcher eine materielle Form in der Theorie der elektrolytischen Dissociation von Arrenius und

Van t'Hoff erhielt, kann, unabhängig von der Vorstellung der Auseinanderfällung der Moleküle in Ionen mit elektrischen Ladungen dadurch ausgedrückt werden, daß in schwachen und konzentrierten Lösungen nicht gleiche Körper oder Stoffe als wirkende Agentien auftreten; wenn in einer starken Lösung das wirkende Agens das Zn-Salz ist, wie ZnSO_4 , so reagiert in einer schwachen Lösung irgend etwas Anderes. Die Theorie der elektrolytischen Dissociation hat eine ganze Reihe amerikanischer gelehrter Botaniker ausgiebig benutzt¹⁾; sie wandten sie bei Untersuchungen über die giftige Wirkung verschiedener Stoffe auf höhere und niedere Pflanzen an, aber besonders vollständig und vielseitig ist diese Theorie von Paul und Krönig²⁾ in ihrer Anwendung bei der Wirkung von desinfizierenden Stoffen auf Bakterien bearbeitet worden. Mit in die Augen fallender Deutlichkeit haben sie bewiesen, daß die relative desinfizierende Wirkung des Metallsalzes in starker Verdünnung von der Eigenschaft des Salzes selbst und seines Lösemittels abhängt, oder mit anderen Worten, von dem Grade der Dissociation des Salzes und der Konzentration der in der Lösung enthaltenen metallischen oder anderen Ionen. Den Grad der elektrolytischen Dissociation kann man leicht aus der Formel $x = \frac{\mu}{\mu^\infty}$ bestimmen, wo μ = der elektrischen Leitungsfähigkeit bei der gegebenen, und μ^∞ = derjenigen bei unendlich großer Verdünnung ist.

Indem ich nun das oben Gesagte in meinem Falle anwende, ist es unumgänglich notwendig, die Aufmerksamkeit auf den Gang der Dissociation des Zink- oder Kupfervitriols bei Erhöhung der Verdünnung zu richten. Wenn wir die Größe von x , nach oben angeführter Formel, für ZnSO_4 und CuSO_4 berechnen und auf das Diagramm auftragen, werden wir leicht bemerken, daß die Krümmungen beider Kurven einem in beiden Fällen fast gleichen Zustande des in der Lösung enthaltenen Salzes entsprechen: $\frac{3}{4}$ des Salzes ist dissociiert und bloß $\frac{1}{4}$ ist in Gestalt von Molekülen noch geblieben. Nach einer Seite wächst die Wirkung des Salzes in seiner ganzen Molekularformel, nach der anderen Seite wirkt als Agens jener veränderte Zustand, welcher nach der elektrolytischen Theorie als Ionenzustand bezeichnet wird.

In jedem Falle sind die Agentien vollständig verschieden; während das eine giftig wirkt, stimuliert das andere. Die Veränderung in der Wirkung auf den Organismus hängt nicht von dem Prozentgehalt des Salzes in der Lösung, sondern von dem Vorhandensein verschiedener Stoffe in derselben ab.

Und so erscheint die allgemeine Ansicht über die Wirkung der Reizerreger für unseren eng begrenzten Fall vollständig phantastisch und fußt bloß auf ungenügender Bekanntschaft mit der Theorie der Lösungen.

1) Stevens, Bot. Gaz. 1898. Kahlenberg and True, *ibid.* 1896. Heald, *ibid.* 1896.

2) Zeitschr. f. phys. Chemie. 1896. p. 414.

Das verschiedene Verhalten des lebenden Organismus zum Reizerreger, angefangen vom ersten Auftreten der Reizung bis zu ihrem Maximum und darüber, beruht auf der verschiedenen Wirkung verschiedener Agentien. Der Wechsel oder das Vorherrschen des einen über das andere ruft auch eine andere Reaktion des Organismus hervor.

Die ganze Kurve der Reizung unter Einfluß von ZnSO_4 müssen wir in 2 unabhängige Teile teilen, die Wirkung des nicht dissociierten Salzes (Gift, Depression) und die Wirkung des Salzes im Zustande der Dissociation (Stimulation). Das Kupfervitriol depressiert in beiden Fällen, in dissociiertem Zustande aber bloß schwach, im Zustande der unzerlegten Moleküle dagegen stark.

Serie A.

Nährlösung nach Raulin. Zucker 4,66 Proz. Temperatur 30—31° C.
Kein Silicium. Dauer: 12 Tage.

No.	Liter Wasser auf eine gr. Mol. von ZnSO_4	Trockengewicht
1	200 000	0,9678 g
2	100 000	0,9477 "
3	70 000	1,1704 "
4	60 000	0,9936 "
5	40 000	0,9688 "
6	35 000	1,1203 "
7	30 000	0,9676 "
8	20 000	0,9414 "
9	∞	1,0687 "

Viel Pigment. Das Mycelium schwarz von Sporen.

Serie B.

Wie früher. Dauer: 10 und 12 Tage.

No.	Liter Wasser auf gr. Mol.	Dauer	Trockengewicht
1	∞	10 Tage	1,0626 g
2	20 000	10 "	1,0507 "
3	10 000	10 "	1,0684 "
4	6 000	10 "	1,0130 "
5	∞	12 "	0,9419 "
6	20 000	12 "	1,0147 "
7	10 000	12 "	0,9917 "
8	6 000	12 "	0,9899 "

Viel Sporen und Pigment in der Nährlösung.

Serie C.

Wie früher. Versuchsdauer: 4 und 6 Tage.

No.	Lit. Wasser auf gr. Mol. ZnSO_4	Dauer	Trockengewicht
1	∞	4 Tage	1,1098 g
2	∞	6 "	1,1744 "
3	2 000 000	4 "	1,7884 "
4	2 000 000	6 "	1,6226 "
5	1 000 000	4 "	1,9003 "
6	1 000 000	6 "	1,6601 "
7	700 000	4 "	2,1651 "
8	700 000	6 "	1,5353 "
9	600 000	4 "	2,0952 "
10	600 000	6 "	1,5412 "
11	400 000	4 "	2,1030 "
12	400 000	6 "	1,5352 "

Serie D.

Wie früher. 700 000 l Wasser auf eine gr. Mol. von $ZnSO_4$.

No.	Versuchsdauer	Trockengewicht	Zucker verschwunden
1	47 Stunden	0,2450	1,0416
2	69 "	1,8637	4,103
3	92 "	2,0160	4,66
4	120 "	1,4616	—
5	140 "	1,2085	—
6	167 "	1,1625	—

Bei No. 3 fängt die Sporenbildung an. Bei No. 4: Die Sporenbildung vollständig.

Wie früher. Ohne $ZnSO_4$.

No.	Versuchsdauer	Trockengewicht	Zucker verschwunden
1	47 Stunden	0,1334	1,0416
2	69 "	0,6022	1,6370
3	92 "	1,0271	2,7145
4	120 "	1,2780	3,5509
5	140 "	1,1394	4,66
6	167 "	1,1266	—

Die Sporenbildung fängt bei No. 2 an und ist bei No. 4 vollständig.

Serie E.

Nährlösung wie früher.

No.	Dauer in Stunden	Lit. auf gr. Mol. $ZnSO_4$	Trockengew.	Anmerkgn.
1	96	∞	1,0464	Die Sporen in 3 Tagen fertig, schwarz; d. Mycel sehr dünn
2	96	20 000 000	1,3092	
3	96	10 000 000	1,3175	
4	96	7 000 000	1,4960	
5	96	6 000 000	1,4836	
6	96	4 000 000	1,5900	
7	96	2 000 000	1,8284	
8	96	1 000 000	1,9323	
9	96	700 000	2,0962	
10	96	600 000	2,0771	
11	96	400 000	2,0109	
12	96	200 000	2,0122	Die Sporen am 4. Tage
13	96	70 000	2,0280	
14	96	40 000	2,0078	
15	96	30 000	2,1404	
16	96	20 000	2,0566	
17	96	7 000	2,1660	
18	96	4 000	2,1896	
19	96	3 000	2,1716	Die Sporen am 5. Tage, gelb Sporenbild. unbedeut., Spor. gelb. Keine Sporen.
20	144	2 000	1,9573	
21	144	1 000	2,0692	
22	216	700	1,2571	
23	216	600	1,1552	
24	216	400	1,3056	
25	216	300	0,1656	
26	216	200	0,0644	
27	216	100	0,0000	

Serie F.

Nährlösung wie früher. Kein Silicium und Zink. CuSO^4 als Reizmittel.

No.	Dauer in Stunden	Lit. auf gr. Mol. CuSO^4	Trockengew.	Anmerkgn.
1	120	150 000 000	0,7501	Sporen schwarz
2	120	50 000 000	0,7773	Desgl.
3	120	15 000 000	0,7531	Desgl.
4	120	7 500 000	0,6671	Desgl.
5	120	1 500 000	0,6215	Desgl., d. Mycel.
6	144	750 000	0,8911	dünn
7	144	500 000	0,6905	Desgl.
8	144	375 000	0,7141	Desgl.
9	144	150 000	0,7211	Desgl.
10	144	75 000	0,7137	Desgl.
11	144	22 500	0,7041	Desgl.
12	144	15 000	0,5117	Das Mycel. sehr
13	144	7 500	0,5983	schwach u. dünn
14	144	3 750	0,5501	
15	144	2 250	0,4671	
16	144	1 125	0,3561	Kleine Insel vom
17	144	375	0,0743	Mycelium
18	144	125	0,0000	
19	144	∞	1,0891	Sporen schwarz, gesund.

Serie G.

Nährlösung wie früher. Kein Silicium, Zink in Verdünnung von einer gr. Mol. auf 200 000 l.

No.	Dauer in Stunden	Lt. Wass. a. g. Mol. CuSO^4	Trockengew.	Anmerkungen
1	120	∞	1,6135	Sporen gelb, d. Mycelium sehr stark
2	120	75 000	2,2701	Spor. schwarz, d. Mycel. sehr stark, weiß
3	120	22 500	1,8951	Desgl.
4	120	7 500	1,8843	Desgl.
5	120	3 750	1,7781	Desgl., d. Mycelium
6	120	2 250	1,4241	schwächer
7	120	425	1,5429	
8	120	375	0,3941	Sporen zerstreut, schwarz
9	120	125	0,0000	Spor. hab. gekeimt,
10	192	425	1,5241	kein Mycel.

In No. 10 war nach 96 Stunden das Zn beigelegt, welches bis dahin fehlte; das dünne, durchscheinende Mycel wurde bald stark, weiß und kräftig.

Aequivalent-Leitfähigkeit nach Kohrausch.

N	$\frac{1}{2}$ ZnSO^4	$\frac{1}{2}$ CuSO^4
10 000	109,3	113,3
5 000	107,2	111,1
2 000	103,1	106,8
1 000	98,4	101,6
500	92,2	93,4
200	82,0	81,5
100	73,4	72,2
50	64,8	63,0
33,3	59,6	57,4
20	53,5	51,4

Nachdruck verboten.

Botanische Beschreibung einiger Bodenbakterien.

Beiträge zur Methode der Speciesbestimmung und Vorarbeit für die Entscheidung der Frage nach der Bedeutung der Bodenbakterien für die Landwirtschaft.

Von Dr. O. Gottheil.

Mit 4 Tafeln.

I. Einleitung.

Von nicht pathogenen Bakterienspecies kennt man nur ganz wenige bezüglich ihrer Morphologie und Entwicklungsgeschichte so genau, daß eine einigermaßen sichere Wiedererkennung der Species möglich ist. Zu solchen relativ gut bekannten Species gehören z. B. *Bacillus asterosporus* A. M., *Bacterium Carotarum* Koch, *Bacillus subtilis* Cohn, *Bacillus tumescens* Zopf.

Der weitere Ausbau der Bakteriensystematik ist aber selbstverständlich nur dann möglich, wenn weitere genaue monographische Bearbeitungen von Bakterienspecies ausgeführt werden. Herr Prof. Arthur Meyer hat zuerst aus diesem Grunde mich veranlaßt, die Untersuchung einiger Formen, unter Berücksichtigung der neueren Untersuchungen über Bakterien, vorzüglich seiner eignen Arbeiten (Flora. 1897 und 1899), vorzunehmen. Es schien Herrn Professor Meyer dabei der beste Weg, die systematische Durcharbeitung mit der Untersuchung leicht sporenbildender, also möglichst vollständiger Species zu beginnen. Es ist ja überhaupt fraglich, ob nicht alle Bakterienspecies Sporen bilden können, denn wir wissen, daß recht beständige asporogene Formen leicht aus sporenbildenden zu züchten sind. Sind genügend sporenbildende Species untersucht, so werden sich die keine Sporen bildenden dann vielleicht vom systematischen Standpunkt auch besser beurteilen lassen. Leicht sporenbildende Species fängt man am besten in der Art, daß man die Substrate vor der Züchtung der Bakterien abkocht, da dann nur sporenbildende Formen übrig bleiben, und es sind deshalb in allen Fällen nur so behandelte Substrate zur Züchtung der Species benutzt worden.

Für die Stellung der speciellen Aufgabe war Herrn Professor Meyer ferner maßgebend, daß augenblicklich für rein physiologisch und für einige praktische Fragen die Erdbakterien von besonderem Interesse sind, und diese so nach verschiedener Richtung eine Ausbeute versprochen. Es schien ihm bei dem Interesse, welches die Landwirtschaft an der Erforschung der Bedeutung der Bakterien für die Schaffung der Bodennährstoffe für die Kulturgewächse hat, höchst wichtig, daß möglichst viele der Bodenbakterien so untersucht würden, daß sie wieder erkannt werden können, und dann auch auf ihre physiologischen Leistungen einzeln wissenschaftlich untersucht werden können. Nur so wird man nach und nach über

die Frage ins klare kommen, welche Bakterienspecies für die Landwirtschaft von Bedeutung sind.

Zugleich wünschte er, daß durch die Ausführung der Arbeit eine Nebenfrage gelöst werde. Es schien ihm nicht unwahrscheinlich, daß die unterirdischen Organe der höheren Pflanzen, auch der Kulturpflanzen, von besonderen Bakterienspecies bewohnt würden, welche diese Substrate, vielleicht nur durch ihre Ernährungsbedürfnisse veranlaßt, aufsuchen könnten, vielleicht aber auch in einer Art Symbiose mit den Wurzeln leben könnten.

Das Verfahren, welches ich auf Veranlassung und unter Leitung des Herrn Prof. A. Meyer zur Lösung dieser Aufgabe einschlug, war das folgende:

Es wurden die Rhizome und Wurzeln folgender Pflanzen im Herbste 1898 gesammelt, die ich mit I bezeichnen will:

Apium graveolens (gewöhnlicher Sellerie), *Beta vulgaris altissima* (Zuckerrübe), *Beta vulgaris lutea* (Teller-rübe), *Beta vulgaris rubra* (rote Rübe), *Beta vulgaris zonata* (geringelte Rübe), *Brassica Napus esculenta* (Kohlrübe), *Brassica oleracea gongyloides* (Kohlrabi), *Brassica Rapa communis* (weiße Rübe), *Daucus Carota* (gemeine Mohrrübe) = aus einer Handelsgärtnerei, Ackererde, in Marburg. *Helianthus tuberosus*, *Iris sambucina*, *Petasites albus*, *Petroselinum sativum*, *Phlomis Russeliana*, *Physostigma virginiana* = aus dem botanischen Garten zu Marburg, *Raphanus sativus vulgaris* (Rettig) aus einer Handelsgärtnerei, Ackererde, in Marburg.

Ferner wurden im Sommer darauf die Wurzeln folgender Pflanzen gesammelt, die ich mit II bezeichnen will.

Beta vulgaris lutea, aus umliegenden Feldern Marburgs, *Brassica Napus esculenta*, aus dem botanischen Garten zu Marburg, *Brassica oleracea gongyloides*, aus umliegenden Feldern Marburgs, *Brassica Rapa communis*, aus Ackererde bei Gießen.

Im Herbste 1899 wurden die folgenden, mit III zu bezeichnenden Pflanzen gesammelt:

Apium graveolens, aus dem botanischen Garten zu Marburg, *Beta vulgaris zonata*, *Brassica Napus esculenta*, *Brassica Rapa communis*, aus umliegenden Feldern Marburgs.

Im August 1900 wurden in der Umgebung von Danzig noch die folgenden, mit IV zu bezeichnenden Pflanzen gesammelt: *Beta vulgaris lutea*, aus einem Feld bei Oliva, *Beta vulgaris rubra*, aus einem Garten in Langfuhr, *Brassica Rapa communis*, 1) aus einem Garten bei Oliva, 2) aus einem Feld bei Zoppot, *Daucus Carota*, aus einem Garten bei Langfuhr.

Zur Gewinnung der endogene Sporen bildenden Bakterien auf den vorher erwähnten Rhizomen und Wurzeln verfuhr ich stets in der Weise, daß ich die betreffenden abgewaschenen Organe in ungefähr 5 cm lange Stücke schnitt, dieselben getrennt, die Stücke eines jeden Organes also für sich, in Schälchen mit kochendem Wasser, welches, wie die ausgeführten Untersuchungen bewiesen

haben, vollständig keimfrei war, legte und sie 1 bis höchstens 2 Minuten lang in demselben liegen ließ; darauf legte ich die Stücke in sterile Petri-Schalen. Nach 2—3 Tagen entwickelten sich auf denselben meist tröpfchenartige Bakterienkolonien, von denen ich die verschiedenen aussehenden nach der gewöhnlichen Verdünnungsmethode mit Dextrosegelatine zu Reinkulturen verarbeitete. Um sicher zu sein, daß die zu untersuchenden Agarreinkulturen auch wirklich rein waren, fertigte ich mit den einmal bereits auf dem Agar entwickelten, als Reinkultur erhaltenen Sporen nochmals Reinkulturen, Verdünnungen in Gelatine, an. Für die Charakterisierung der Bakterien-species sind folgende Untersuchungsmethoden angewandt worden: Gelatineplattenkultur, Gelatinestichkultur (die Gelatine war stets zusammengesetzt aus: 10,0 Gelatine, 1,0 Dextrose, 0,2 Chlornatrium, 0,8 Liebig's Fleischextrakt, 1,2 Pepton Witte, 100,0 Wasser). Agarstrichkultur, Agarstichkultur.

Der Agar bestand stets aus: 1,6 g Agar, 1,0 Dextrose, 0,2 g Chlornatrium, 0,8 g Liebig's Fleischextrakt, 1,2 g Pepton Witte, 100,0 Wasser und wurde in folgender Weise hergestellt. Zuerst fertigte ich mit der Hälfte der angegebenen Menge Wassers und den vorgeschriebenen Mengen Pepton, Fleischextrakt, Chlornatrium eine Lösung an, neutralisierte dieselbe mit konz. Natriumkarbonatlösung, erwärmte sie einige Zeit im Sterilisator und filtrierte dann die Lösung. Gleichzeitig benutzte ich die andere Hälfte des Wassers zur Quellung des abgewaschenen Agars; nachdem derselbe ungefähr 3 Stunden lang, bei Zimmertemperatur stehend, im Wasser gequollen war, fügte ich die vorbereitete neutralisierte Lösung hinzu, löste den Agar im Sterilisator, ließ ihn dann nach ungefähr 3 Stunden behufs Klärung bei 100° stehen, nötigenfalls neutralisierte ich ihn nochmals mit Natriumkarbonatlösung, erwärmte ihn kurze Zeit und filtrierte ihn sodann. Nach der Filtration fügte ich die vorgeschriebene Menge Dextrose hinzu und sterilisierte den jetzt fertigen Agar an 3 aufeinanderfolgenden Tagen.

Wachstum auf steriler Möhrenscheibe, Wachstum auf steriler Kartoffelscheibe. Entwicklungsgang der Bakterien auf dem beschriebenen Dextroseagar mit Rücksicht auf Morphologie und Physiologie, Entwicklungsgang in derjenigen der folgenden Nährlösungen, in welcher das Wachstum normal verläuft. Wachstum in den verschiedenen Nährlösungen, Wachstumsintensität in den folgenden Nährlösungen:

No. 0. Fleischextrakt Liebig 1,0, Pepton 1,0, Rohrzucker 0,5, Dextrose 0,5, Milchsucker 0,5, Seignettesalz 0,1, ad 120,0 Wasser. No. I. Fleischextrakt L. 1,0, Pepton 1,0, Rohrzucker 1,0, 100,0 Wasser. No. II. Pepton 0,5, Trockensubstanz der Bierwürze 1,5, Mannit 1,0, 100,0 Wasser. No. III. Pepton 1,0, ad 100,0 mineralische Nährlösung. No. IV. Asparagin 1,0, ad 100,0 mineral. Nährlösung. No. V. Asparagin 1,0, Glycerin 1,0, Rohrzucker 0,5, ad 100,0 mineral. Nährlösung. No. V_a. Asparagin 1,0, Rohrzucker 3,0, ad 100,0 mineral. Nährlösung. No. V_b. Asparagin 1,0, Galaktose 3,0, ad 100,0 mineral. Nährlösung. No. V_c. Asparagin 1,0, Milchsucker 3,0, ad 100,0 mineral. Nährlösung. No. V_d. Asparagin 1,0, Glycerin 3,0, ad 100 mineral. Nährlösung. No. VI. Weinsaures Ammon 1,0, Glycerin 1,0, Rohrzucker 0,5, ad 100,0 mineral. Nährlösung. No. VII. Kalisalpeter 1,0, Rohrzucker 0,5, Glycerin 1,0, ad 100,0 mineral. Nährlösung. No. VIII. Kaliumnitrit 0,05, Soda 0,05, ad 100 mineral. Nährlösung. No. IX. Dextrose 0,5, Rohrzucker 0,5, Glycerin 0,5, ad 100 mineral. Nährlösung. No. X. Asparagin 1,0, Dextrose 3,0, ad 100 mineral. Nährlösung. No. XI. Auf 1 Liter mineral. Nährlösung 0,25 mg. Ammonsulfat und 0,5 Natriumkarbonat. Mineralische Nährlösung. Kaliumphosphat 1,0, Chlorcalcium 0,1, Magnesiumsulfat 0,3, Chlornatrium

0,1, Destilliertes Wasser 1000,0 + Spur Eisen. Außerdem benutzte ich noch die Nährlösung No. I + 0,02 Proz. Weinsäure, in welcher sich aber alle untersuchten Bakterien nicht entwickelten.

Titrimetrische Untersuchung der Säurebildung und Alkalibildung; Diastasebildung, Gasbildung.

II. Ueber den Wert einiger von mir für die Bestimmung der Arten der Bakterien benutzten Merkmale und über die benutzten Untersuchungsmethoden.

Die allgemeine Erfahrung hat gelehrt, daß die Bakterien in ihren Eigenschaften ebenso veränderlich sind wie andere Pflanzen, und daß bei der großen Zahl der Individuen, welche in kurzer Zeit gebildet werden, diese Variabilität besonders scharf hervortritt. Herr Prof. Meyer stellt deshalb als wichtigsten Leitsatz für die Definitionen der Species auf: „daß für diese Definitionen ein besonderes Augenmerk auf den Umfang der Variationsfähigkeit jeder Eigenschaft der Species gerichtet werden muß. Es soll demnach also für jede zur Umgrenzung einer Species benutzte Eigenschaft die Variation dieser Eigenschaft unter den verschiedenen Bedingungen so weit als möglich festgelegt werden. Die Art der Variation ist ja unter bestimmten verschiedenen Bedingungen immer bestimmt gleichartig, so daß sie ein festes Moment für die Beschreibung der Species bildet, wenn die Umstände, welche die Variation bedingen, festgelegt werden.“

Eine Sicherheit der Unterscheidung einer Species von anderen wird allerdings in manchen Fällen, wenn man diese Variation berücksichtigen will, nur dann möglich sein, wenn die betreffenden Originalkulturen zur Verfügung stehen, damit man deren Entwicklung mit der des zu bestimmenden Bakteriums vergleichen kann, weil die Untersuchungsbedingungen oft nur so ganz gleich gemacht werden können.

Selbstverständlich müssen bei der Charakterisierung einer Species diejenigen Merkmale in den Vordergrund gestellt werden, welche am konstantesten sind. Ich will deshalb zuerst die von mir gemachten Erfahrungen über die Veränderlichkeit und die Festigkeit der verschiedenen Eigenschaften der Bakterien besprechen.

1) Wuchsformen der Bakterienkolonien auf Agar, Gelatine, überhaupt auf festem Nährboden inkonstanter Zusammensetzung.

Daß das Aussehen der Kolonien (die Wachstumscharaktere der Bakterien) auf Agar, im Gelatinestich, auf der Gelatineplatte und auf festem Nährboden, welches bis jetzt hauptsächlich der Diagnose für die Bakterien-species zu Grunde gelegt worden ist, außerordentlich für jede einzelne Species variieren kann, im besonderen mit der Variation jedes einzelnen Nährbodens und der Temperatur ist bekannt. Kruse spricht sich (Flügge 1896. II. Teil. p. 90 und p. 91, sowie I. Teil, p. 480) sehr eingehend und richtig über diesen Gegenstand aus.

Ward, H. M. (1895) gelangte auf Grund seiner Unter-

suchungen von Wasserbakterien der Themse zu den Resultaten, daß die Variationen der Gestalt, Wachstumsweise, Größe und Farbe, sowie anderer Charaktere der Plattenkolonien, sowohl auf geringe Variationen der Gelatine und der Umgebung, als auch auf die wechselnden Ernährungsverhältnisse der Bakterien-species vor der Kultur im Laboratorium zurückzuführen sind, meint aber, daß es letzteren Ursachen der Variation in erster Linie zuzuschreiben sei, daß es so schwierig ist, Bakterien nach irgend einer Beschreibung zu bestimmen. Bei Migula findet man auf p. 631 z. B. weiter Folgendes über eine Stickskultur von *Bacillus cephaloideus*, welches recht geeignet ist, die Verschiedenartigkeit zu illustrieren, welche die Wuchsform der Species unter annähernd gleichen Verhältnissen zeigen kann: „Verschieden ist das Bild der Stickskulturen in Gelatine. Bald gehen von dem Impfstiche seitliche Fortsätze aus, die sich so verzweigen, daß die Kultur das Aussehen eines Baumes hat; andere Male entwickeln sich dem Impfstrich entlang kleine einander nahestehende Kolonien ohne Fortsätze, andere Male wieder strahlen von dem Einstiche lange verzweigte Fäden aus, so daß die Kultur einem sehr feinen Fadengewirre gleicht. Selbst bei Benutzung derselben Gelatine zeigen die Kulturen Verschiedenheiten.“

Eine sehr wesentliche Rolle für das Aussehen der Gelatinekulturen spielt die Verflüssigung der Gelatine, welche letztere durch die Einwirkung der Bakterien erfährt, und so ist auch noch auf die Erfahrungen hinzuweisen, welche in Beziehung auf die Variabilität des Verflüssigungsvermögens, z. B. Matzschita (1900. p. 304) und Klepsoff (1895. p. 294) für *Bacillus anthracis* gemacht haben, sowie auf die Beobachtung von Kuhn (1891, S. 70) und Auerbach (1897) über den Einfluß von Zuckerarten auf die Verflüssigung etc. Migula (1897. p. 252) macht auf die großen Verschiedenheiten des chemischen Charakters der Gelatine des Handels aufmerksam und den Einfluß dieser nicht zu vermeidenden Verschiedenheiten auf das Aussehen der Kulturen. Ferner betont er noch besonders (p. 253) den Einfluß des verschiedenen Aciditätsgrades der Handelsgelatine auf die Verflüssigung der Gelatine durch die Bakterien.

Mit dem an den angeführten Stellen Gesagten stimmen die weiteren Ausführungen Migula's, denen ich nicht zustimmen kann, nicht ganz überein. Migula meint p. 255: „wenn es nun auch unmöglich ist, immer eine völlig gleichartige Gelatine herzustellen, so kann man doch wenigstens bei Einhaltung gewisser Regeln eine Nährgelatine erhalten, die von einer bestimmten Normalgelatine nicht erheblich abweichen wird. Eine solche herzustellen ist aber für systematische Zwecke zur Beschreibung der Kulturen unerlässlich, wenn nicht die Beschreibung der so überaus wichtigen Gelatinekulturen überhaupt wertlos werden soll.“

Darauf führt Migula eine Vorschrift für eine herzustellende Nährgelatine an und sagt hinterher: „Ich habe eine größere Anzahl Bakterien wiederholt auf nach dieser Vorschrift zu ganz verschiedenen Zeiten hergestellter Gelatine gezüchtet und niemals ge-

funden, daß sich auffallende Unterschiede im Aussehen der Kulturen eingestellt hätten.“ Er hat bei Durcharbeitung von ungefähr 600 Kulturen gefunden, daß nur ein kleiner Teil den Originalbeschreibungen wirklich entsprach, und meint, daß: „die meisten Arten entweder falsch bestimmt waren, oder sich in langjähriger Kultur so in ihren kulturellen Eigenschaften verändert hatten, daß sie mit der ursprünglichen Beschreibung nicht im mindesten mehr übereinstimmten.“

Ich glaube, daß ein großer Teil der Differenzen einfach auf die Verschiedenartigkeit der Nährböden und der äußeren Kulturverhältnisse zurückzuführen ist, viel weniger auf die von Migula angenommenen Ursachen.

Es läßt übrigens diese von Migula gemachte Angabe erkennen, daß die meisten Bakterienbeschreibungen, wie dieselben im „System der Bakterien“ (Handbuch der Morphologie, Entwicklungsgeschichte und Systematik der Bakterien. Jena, 1900) vorliegen, für die Wiedererkennung der Species unbrauchbar sein müssen, was von Bedeutung für die Würdigung unserer Behandlung dieser Species ist.

Was meine eigenen Erfahrungen anbelangt, so scheint mir ein großes Hemmnis für die Anwendung der Kulturmerkmale zur Speciesdiagnose ganz allgemein in der Schwierigkeit der Beschreibung vieler der feineren Merkmale der Kolonien zu liegen. Schon hierdurch werden in vielen Fällen Kulturmerkmale nur dann als Unterschiede benutzt werden können, wenn man zwei zu unterscheidende Species direkt nebeneinander kultiviert und die Kolonien direkt vergleicht. Geschieht diese Vergleichung auf gleichem Nährsubstrate und bei gleichen äußeren Verhältnissen, womöglich in einer Petri-Schale zugleich etc., so können auch diese Merkmale von Bedeutung werden. Anders verhält es sich bei der Vergleichung von Beschreibungen mit einer Kultur und bei Vergleichung von Kulturen, die zu verschiedenen Zeiten mit verschiedenem Materiale gewonnen wurden, untereinander. Meine eigenen Beobachtungen über die äußere Morphologie der Kolonien in der Gelatineplatte bestätigen zuerst die Angaben der Literatur, daß dieselbe für ein und dieselbe Species sehr verschieden ausfallen kann. Besonders ändert sich der Charakter der Kolonien hier auch wie bei allen anderen Kulturverfahren, wenn man von Stäbchen- oder abgekochtem Sporenmateriale ausgeht. Auch traten Differenzen auf, wenn einmal sehr viele, das andere Mal sehr wenige Kolonien in einer Petri-Schale vorhanden sind, auch dann, wenn einmal die Oberflächen-, das andere Mal die Tiefenkolonien überwiegen.

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Eine Bemerkung zu den Ansichten über die Natur der Zymase.

Von O. Loew.

In einem Referat in der Botanischen Zeitung, 1901. p. 5 äußert sich Behrens betreffs der Natur der Zymase, wie folgt:

„Referent ist vielmehr geneigt, den Schlußsatz (daß lebendes Protoplasma in der sterilisierten Hefe nicht mehr vorhanden sei) zu bestreiten und aus den neuen Versuchsergebnissen den Schlußsatz zu ziehen, daß der Teil oder die Organe des Hefeplasmas, welche die Träger der Gärwirkung sind, größere Widerstandsfähigkeit besitzen, als der übrige Protoplast. Dies wäre keineswegs ohne Analogie.“

In dieser Hinsicht möchte ich darauf hinweisen, daß ich bereits im Jahre 1886 wörtlich folgendes geschrieben habe¹⁾: Was nun die Ausführung der Gärthätigkeit betrifft, so möchte ich meine eigene Ansicht dahin präzisieren, daß es am wahrscheinlichsten ist, daß in einer gärtüchtigen Pilzzelle 2 Arten von Protoplasma existieren, die eine Protoplasmaabteilung besorgt die gewöhnlichen Vorgänge, wie Zellwandbildung, Wachstum, Teilung, während die andere lediglich Gärwirkung ausübt.“ Ich setzte diesen „Zytoplasten“ in Analogie mit dem Chlorophyllkorn der grünen Blattzellen, führte diese Hypothese noch weiter in einem späteren Artikel aus²⁾ und wies besonders darauf hin, daß die Thatsache, daß man manchen Bakterienarten durch Erhitzen auf ca. 80° C ihre Gärthätigkeit nehmen kann, ohne ihr Leben zu vernichten, welches nun ein obligat aërobes geworden ist, für jene Ansicht spricht.

Manche Eigenschaften der Zymase, die Wróblewski³⁾ und dann Ahrens⁴⁾ beobachtet haben — die Wirkung der Verdünnung und die starke Kälte — sprechen in der That mehr für eine protoplasmatische als eine Enzymnatur der Zymase, während in anderer Beziehung wieder die Enzymnatur wahrscheinlich wird. Ich bin nicht gesonnen, mich bei dem Streite pro und contra zu beteiligen; jedenfalls hat E. Buchner das bleibende Verdienst, gezeigt zu haben, daß die Hefezelle als Ganzes nicht zur Zuckervergärung nötig ist.

Der am Schlusse des oben citierten Referates von Behrens geäußerten Ansicht, daß die Anrufung von Autoritäten nicht unzweideutige schlagende Versuchsergebnisse ersetzen könne, pflichte ich vollkommen bei und möchte nur wünschen, daß solche Ansichten sich einer größeren Verbreitung erfreuen möchten.

1) Journal für praktische Chemie. Bd. XXXIII. p. 351.

2) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. IX. 1891. No. 22.

3) Centralbl. f. Physiol. 1899. Sept.

4) Zeitschr. angew. Chem. 1900. Heft 20; Ref. in Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. 1900. p. 744.

Referate.

Bokorny, Th., Vergleichende Bemerkungen über die spontane und die durch Lab bewirkte Milchgerinnung (Milchsäureferment und Labferment). (Chem.-Ztg. 1901. No. 1.)

Von Interesse ist hier besonders der Vergleich der Empfindlichkeit beider Fermente. Letzteres ist ein „ungeformtes“, ersteres ein „geformtes“ Ferment, d. i. ein gärungserregender Organismus. Gegen viele Schädlichkeiten verhalten sich beide Fermente annähernd gleich, in einigen Versuchen aber stellten sich starke Unterschiede heraus.

Durch 0,5 Proz. Formaldehyd wird die Entwicklung der Milchsäurebakterien in der Milch gehindert, damit auch die Säuerung und Gerinnung (nach Versuchen des Verf.'s liegt die Menge Milchsäure, welche zur Gerinnung mindestens da sein muß, zwischen 0,4 und 0,1 Proz.). Binnen 6 Tagen tritt im Brüttofen keine Gerinnung und Säuerung der Milch ein, während ohne das Gift schon nach 24 Stunden Gerinnung da ist.

Ebenso wird auch die Labgerinnung der Milch durch 0,5 Proz. Formaldehyd verhindert. Binnen 3 Tagen tritt keine Gerinnung, während sonst einige Stäubchen Labpulver (1 : 300 000, von Grübler, Leipzig) fast augenblicklich die Gerinnung von etwa 20 ccm Milch bewirken.

0,1 Proz. Sublimat vermag die spontane Milchgerinnung 8 Tage lang bei 30° zu verhindern; die Labgerinnung der Milch wird dadurch nur etwas aufgehalten, statt sogleich tritt sie erst eine Stunde nach Zusatz des Labpulvers ein.

Gegen Silbernitrat ist der Milchsäurebacillus merkwürdigerweise etwas weniger empfindlich als gegen Sublimat, während Silbernitrat sonst das schärfste Gift für Pilze und andere Organismen (Algen) ist; 0,1 Proz. Silbernitrat hält die spontane Milchgerinnung zwar um einige Tage auf, unterdrückt sie aber nicht; erst 0,2 Proz. ist dazu im Stande.

Die Labgerinnung wird durch 0,1 Proz. Silbernitrat nicht verzögert; also ist das Labferment weniger empfindlich als der Milchsäurebacillus.

0,5 Proz. Natriumhydroxyd hindert die spontane Säuerung der Milch nicht ganz, binnen 8 Tagen ist neutrale Reaktion hergestellt. 0,1 Proz. Natriumhydroxyd verzögert die Labgerinnung der Milch schon ganz bedeutend.

1 Proz. benzoësaures Natrium verzögert die spontane Milchgerinnung um 2 Tage, die Labgerinnung gar nicht.

1 Proz. Zimmtsäure (mit Borax) verhindert die spontane Milchgerinnung völlig; die Labgerinnung tritt binnen $\frac{1}{2}$ Stunde ein; 2 Proz. Zimmtsäure verhindert aber auch die Labgerinnung.

2 Proz. Fluornatrium verhindert spontane wie Labge-

rinnung; desgleichen 1 Proz.; 0,5 Proz. verzögert beide sehr bedeutend.

Thymol verhindert bei Sättigungskonzentration (0,1 Proz.) weder die spontane noch die Labgerinnung.

Salicylsäure bei Sättigungskonzentration (1:400) verzögert die spontane Milchgärung nicht einmal; Labgerinnung tritt ebenfalls ein.

0,5 oder 1 Proz. Karbolsäure verhindert die spontane Milchgärung, nicht aber die Labgerinnung.

Chloroform (bei Sättigungskonzentration) hindert die spontane Gerinnung, nicht die andere. Autorreferat.

Will, H., Einige Beobachtungen über die Lebensdauer getrockneter Hefe. V. Nachtrag¹⁾.

Bei der wiederholten Untersuchung der beiden Holzkohlenkonserven No. 9 und 10 nach Verlauf von 14 Jahren und 2 Monaten erwies sich erstere durch Wasser, welches durch Rostlöcher eingedrungen war, als verdorben. Die Konserve No. 10 dagegen entwickelte noch Hefe, und zwar nur wilde.

Die gleichzeitige Prüfung einiger anderer, ebenfalls im Jahre 1886 angefertigter und im Eiskasten aufbewahrter Hefekonserven ergab verschiedene Resultate. Eine Holzstoff- und eine Asbestkonserve waren verdorben. Eine zweite Asbestkonserve, welche unzweifelhaft nach Verlauf von 14 Jahren und 2 Monaten zum 1. Male geöffnet wurde, enthielt noch relativ viel lebens- und entwicklungsfähige Zellen von wilder Hefe. Die Kulturhefe war tot.

Auch der Asbest eignet sich also unter gewissen Bedingungen sehr gut als Beimengung zur Konservierung von Hefe. Immerhin dürften die mehr oder weniger porösen, Wasser aufsaugenden Substanzen, wie Holzstoff, Holzkohle etc., welche auch das Trocknen der Hefemischungen ohne Beschädigung der Zellen erleichtern, den Vorzug verdienen.

Die Hauptsache bleibt in allen Fällen, daß die Trocknung in zweckentsprechender Weise vorgenommen wird. Beim Konservieren von Reinhefe müssen geschlossene Apparate angewendet werden. Das erste Erfordernis ist dabei die rasche Entfernung des beim Trocknen verdampften Wassers. Gänzlich fehlerhaft sind solche Vorrichtungen, bei welchen die Hefekonserven auf mehrere, übereinander liegenden Horden aufgetragen wird. Autoreferat.

Heinzelmann, G., Schimmeliges Malz. (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. Jahrg. XXIII. No. 43.)

Verf. hatte Gelegenheit, kürzlich in einer Brennerei stark verschimmeltes Malz zu sehen und zu beobachten, daß dasselbe bei der weiteren Verarbeitung kein schlechtes Resultat ergab. Leider ist nicht festgestellt worden, welche Arten Schimmel vorhanden

¹⁾ Mitteilungen der wissenschaftl. Station f. Brauerei in München. (Zeitschr. ges. Brauw. Bd. XXIV. 1901. p. 3—4. Vergl. dies. Centralbl. 2. Abt. Bd. III. 1897. p. 17; Bd. IV. 1898. p. 485; Bd. V. 1899. p. 527; Bd. VI. 1900. p. 226.)

waren. Da es aber aus mancherlei Gründen wünschenswert erscheint, den Schimmel fernzuhalten, giebt Verf. an, daß dies gelingt, wenn man die Gerste mit einem Gemisch von 100—120 g Kalk und Wasser auf 1 Centner anrührt und 6—8 Stunden stehen läßt, hierauf ablaufen läßt und mit Wasser nachwäscht. Ebenfalls interessant ist die Mitteilung von Versuchen Cerny's, nach denen 1 kg Chlorkalk mit 5 hl Wasser bewirkt, daß

- 1) die Farbe des Malzes lichter wird,
- 2) die Keimungsenergie und Keimfähigkeit größer wird,
- 3) die Schimmelwucherung entweder völlig unterdrückt oder doch wesentlich abgeschwächt wird.

A p p e l (Charlottenburg).

Hansen, Emil Chr., Recherches sur les bactéries acétifiantes. Troisième mémoire. (Compt. rend. des travaux du Laboratoire de Carlsberg. T. V. 1900. Livr. 1. p. 39.)

Hansen teilt zuerst seine neuen Resultate in betreff der Lebensgrenze der unten stehenden 3 Arten in verschiedenen Nährflüssigkeiten mit. Sie können in der folgenden Uebersicht zusammengefaßt werden:

	Lagerbier	Doppelbier	Saccharoselösg.	Wasser
Bact. aceti:	Lebte mehr als 9 Jahre	Lebte mehr als 6 Jahre; in einigen Fällen nicht 5 Jahre	Lebte ca. 2 Jahre	Lebte ca. 1 ¹ / ₂ Jahr
Bact. Pasteurianum:	lebte mehr als 10 Jahre, in einem Falle nach 1 bis 2 Jahren gestorben	lebte mehr als 6 Jahre; in einem Falle nach 2 ¹ / ₄ Jahren gestorben	lebte ca. 1 Jahr	nach ¹ / ₂ —1 Jahre gestorben
Bact. Kützingianum:	lebte mehr als 7 Jahre; in einigen Fällen nur 5 Jahre	lebte mehr als 6 Jahre; in einigen Fällen nach 5 Jahren gestorben	lebte ca. 1 Jahr	lebte ca. ¹ / ₄ Jahr

Die beste Aufbewahrungsflüssigkeit für die Essigsäurebakterien ist also das Lagerbier; die genannten 3 Arten lebten im allgemeinen darin 4 Jahre.

Wurden Zellen dieser 3 Arten auf Platindraht eingetrocknet und diese Präparate danach in sterile Freudenreich-Kolben bei gewöhnlicher Zimmertemperatur oder bei 40° C eingebracht, so war die Lebensgrenze ca. 5 Monate. Wurden die obengenannten Trockenpräparate in Glasröhren eingebracht, die dann zugeschmolzen und bei gewöhnlicher Zimmertemperatur und bei 2° C aufbewahrt wurden, so zeigte es sich, daß die Lebensgrenze bei der erstgenannten Temperatur ca. 5 Monate, bei der letzteren mehr als 1 Jahr war. Werden die Zellen in feuchtem Zustande in den genannten Röhren angebracht, so sterben sie sehr schnell ab.

Die ersten Beiträge zur Kenntnis der Variation der Essigsäurebakterien teilte Hansen in seinen früheren Abhandlungen

mit, indem er u. a. zeigte, daß die Schleimschicht der Zellen bei *Bact. Pasteurianum* und *Bact. Kützingianum* die Fähigkeit zur Blaufärbung mittels Jodlösungen verlieren kann, sowohl wenn die Bakterien auf Flüssigkeiten als auf festem Substrat gezüchtet werden; dies war aber nur eine flüchtige Variation. Beijerinck und Hoyer teilten später mit, daß eine Art, welche sie *Bact. Pasteurianum* nennen, auf Biergelatine konstant die Fähigkeit zur Blaufärbung verliert. Hansen unterwarf diese Mitteilung einer Kontrolle und zog darin auch das *Bact. Kützingianum* ein. Während der Züchtung auf Biergelatine wurden zu verschiedenen Zeiten Oberfläche-Plattenkulturen auf Würzelgelatine gemacht und das Verhalten der einzelnen Kolonien zu der genannten Reaktion bestimmt.

Nachdem *Bact. Pasteurianum* ein Jahr hindurch auf die nämliche Weise gezüchtet war, fanden sich wohl einige einzelne Zellen, deren Schleimschicht vorläufig die Fähigkeit zur Blaufärbung mittels Jod verloren hatte; durch Züchtung auf Doppelbier kehrten sie aber immer zum Normalen zurück. Eine konstante Umbildung, wie von Beijerinck angegeben, wurde nicht gefunden. In derselben Weise wurde *Bact. Kützingianum* während 8 Monaten untersucht. Vorläufig umgebildete Zellen wurden auch hier beobachtet und außerdem auch einige ganz wenige konstant umgebildete. Letztere aber erschienen nicht in allen Versuchen; sie kamen ebenso häufig nicht zum Vorschein. Unter konstant umgebildeten Zellen werden hier solche verstanden, welche sich wenigstens ein Jahr lang hielten. Es ist also wahrscheinlich, daß Beijerinck und Hoyer gar nicht mit *Bact. Pasteurianum* experimentiert haben, sondern eher mit *Bact. Kützingianum*. Und auch bei letzterer Art fanden sich in der gedachten Variation, wie gesagt, Unregelmäßigkeiten. Zum Schlusse wendet Hansen sich gegen die systematischen Umgruppierungsversuche Beijerinck's.

Klöcker (Kopenhagen).

Tubeuf, Frhr. von, Studien über die Schüttekrankheit der Kiefer. [Kleinere Mitteilungen.] (Arbeiten aus der biologischen Abteilung für Land- und Forstwirtschaft am kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. II. Heft 1.) Berlin (Parey & Springer) 1901.

Das erste Heft des zweiten Bandes der Arbeiten aus der biologischen Abteilung bringt ausschließlich Beiträge aus dem botanischen Laboratorium und aus der Feder Tubeuf's. Den weit aus größten Teil des Heftes füllt eine zusammenfassende und durch die Ergebnisse eigener Forschungen bereicherte Darstellung der Kieferschütte, einer Krankheit, deren Litteratur außerordentlich zerstreut, und deren Natur selbst noch immer umstritten ist, so daß eine zusammenfassende Darstellung ein recht dankenswertes Unternehmen genannt werden darf.

In der Einleitung bespricht der Verf. an der Hand der Litteratur die Theorien der Schütte. Nach den Einen ist diese Kinderkrank-

keit der Kiefer nur eine Folge anorganischer meteorologischer und Bodenverhältnisse (Ebermeyer, Heß), nach den Anderen ist sie eine Pilzkrankheit. Ob aber dann gerade der von Göppert 1852 gefundene Pilz *Lophodermium Pinastri* die Ursache ist, wird wieder von Einzelnen trotz der Infektionsversuche Prantl's bestritten. Verf. erkennt ohne weiteres an, daß ein Schütten als Folge meteorologischer und Standortverhältnisse wohl möglich ist und sicher auch hier und da, aber selten vorkommt. Die typische gewöhnliche Krankheit führt er indessen, worin Ref. ihm durchaus beistimmt, auf das *Lophodermium Pinastri* zurück. Allerdings verlieren bei seiner kritischen Darstellung die angeblich gelungenen Infektionsversuche Prantl's viel, wenn nicht alles von ihrer Beweiskraft, und ihm selbst ist es nicht gelungen, diese Lücke auszufüllen. Es spricht aber für die ursächliche Beteiligung des *Lophodermium* nicht nur sein stetes Vorkommen schon in den ersten Anfängen der Krankheit, sondern nicht weniger auch die Wirksamkeit der fungiciden Kupfermischungen gegen dieselbe.

Der erste Teil der Arbeit beschäftigt sich mit der systematischen Stellung des Pilzes der Kieferschütte, seiner Synonymik und giebt eine zusammenhängende Darstellung aller jener Verwandter des Schüttelpilzes, die auf Coniferennadeln vorkommen. Sie gehören alle zu den Hypodermieen, und zwar zu den 3 Gattungen *Hypodermella* (mit einzelligen, thränenförmigen Sporen, Ascus 4-sporig), *Hypoderma* (mit nicht fadenförmigen, 1-, später 2-zelligen Askosporen, zu 8 im Schlauch), *Lophodermium* (Sporen 1-zellig, fadenförmig, 8 im Schlauch). Aufgezählt werden folgende Parasiten von Coniferennadeln:

Hypodermella laricis Tub. auf *Larix europaea*;

H. sulcigena (Link) Tub. auf *Pinus silvestris* und *montana*;

Hypoderma strobicola Tub. (= *Lophodermium brachysporum* Rostr.) auf *Pinus strobus* und *excelsa*;

H. pinicola Brunch. auf *Pinus silvestris*;

H. robustum n. sp. auf *Abies* (concolor?; von Mayr in Japan gesammelt);

Lophodermium pinastri (Schrad.) auf *Pinus silvestris*, *montana*, *Laricis*, *Cembra* (Apothecien vom Verf. auch auf toten Primärblättern von *P. rigida* gefunden);

L. macrosporum R. Hartig an *Picea excelsa*;

L. Abietis Rostr. an *Picea excelsa* und *Abies pectinata*;

L. nervisequium (D. C.) an *Abies pectinata*;

L. laricinum Duby an *Larix europaea*;

L. gilvum Rostr. an *Pinus laricio*;

L. juniperinum (Fries) an *Juniperus communis*.

Genauer beschrieben werden die neue Art *Hypoderma robustum* (nach Herbarmaterial) und die bereits 1895 vom Verf. publizierte *Hypodermella laricis*, ein anscheinend ver-

breiteter, aber wohl vielfach übersehener und mit *Lophodermium laricinum* Duby verwechselter Lärchenschädling.

Bezüglich der Morphologie des *Lophodermium pinastri* wird die Art der Oeffnung der Apothecien genauer beschrieben. Sie öffnen sich durch Quellung in Wasser in einem Längsspalt, der sich beim Austrocknen wieder schließt, um das Spiel beim Befuchten zu wiederholen. Die Reife der Schläuche in einem Apothecium tritt nicht gleichzeitig ein, vielmehr finden sich stets neben reifen und entleerten halbreife und ganz junge in jedem Entwicklungsstadium, so daß zweifellos das Reifen und Auswerfen der Sporen in einem Apothecium sehr allmählich und nacheinander erfolgt. Verf. fand schon im ersten Frühjahr (Februar) offene Apothecien und verfolgte das Auswerfen von Sporen bis in den Spätherbst (November) an wiederholt an gleichem Orte gesammeltem Material. Die Apothecien der abgefallenen Nadeln werfen also über mehr als die gesamte Vegetationsperiode hin Sporen aus; die Zeit der Infektionsmöglichkeit ist also eine sehr lange, da ein Austrocknen der Apothecien die Keimfähigkeit der Sporen nicht schädigt. Die Keimung gelang am besten in einer ziemlich konzentrierten, zuckerreichen Nährlösung; es wurden aber stets nur sterile, mehr oder weniger große Mycelien erhalten; eine Reinkultur gelang nicht. Infektionen mit Sporenmaterial mißlingen; dagegen erkrankten Kiefernpflanzen im Freien, soweit die Parzellen mit apothecienreichen Kiefernadeln bestreut waren. Gelbe Flecke, welche Prantl als erstes Zeichen der gelungenen Infektion ansieht, wurden aber nicht beobachtet oder erwiesen sich, wo sie beobachtet wurden, als mycelfrei und unabhängig von einer Pilzinvasion. Ueberhaupt befällt *Lophodermium* nicht, wie Prantl angiebt, die jungen Nadeln im Mai, sondern die Infektion erfolgt im Freien nicht vor August, wenn also die Nadeln schon voll entwickelt sind. Die befallenen Stellen verfärben sich etwas in hell- oder graugrüne; bei der mikroskopischen Untersuchung findet man dann die Intercellularen dieser Stellen von dem charakteristischen Mycel (zweischichtige, dicke Zellwände) durchwuchert. Später bräunt sich die Stelle und endlich die ganze Nadel. Die Apothecien entstehen selten noch im Spätherbst des gleichen Jahres; dagegen sind sie im Frühjahr und Sommer der folgenden Vegetationsperiode ausnahmslos reif und imstande, keimfähige Sporen zu ejakulieren. Nach einigen Versuchen genügen wenige Wochen zur Fertigstellung der Apothecien auf den gebräunten, pilzdurchwucherten Nadeln.

Der Pilz beschränkt sich, wie es scheint, durchaus auf die Nadeln, die er tötet, und die dann als unnütz von der Pflanze samt dem ganzen sie tragenden Kurztrieb abgeworfen werden. Ein einmaliger Verlust der Benadelung tötet die Kiefernpflanze noch nicht oder höchstens unter ganz besonderen Verhältnissen; dagegen wirkt eine öftere Wiederholung des Nadelverlustes natürlich sehr schädlich.

Der zweite Teil behandelt die Bekämpfung der Schütte. Zunächst werden an der Hand der Zusammenstellung von Holzner

(1877) und nach den Ergebnissen der von den deutschen Oberförstereien beantworteten Fragebogen die Ergebnisse einer Anzahl älterer Vorbeugungsmaßnahmen und Bekämpfungsversuche gesichtet, unter anderem von Maßnahmen gegen das Erfrieren und Vertrocknen der Pflanzen, Schutz gegen anfliegende Pilzsporen (Mischsaaten, Verunkrautung, Graswuchs, Hecken, Verlegung der Saatbeete an kiefernfreie Orte etc.), Wahl der Saatzeit, Maßnahmen zur Erhöhung der Resistenz der Pflanzen (weite Saat, Lichtstellung etc). Von ihnen versprechen nur die Maßregeln, welche einen Schutz gegen den Pilzsporenanflug herbeiführen, Erfolg, der aber viel leichter und viel sicherer erzielt wird durch die einzige durchschlagende direkte Bekämpfung des Uebels mittels der als Fungicide so viel verwendeten Kupfermittel. Auf dieselbe machten zuerst Bartet und Vuillemin 1888 aufmerksam. In Deutschland hat seit 1891 ein pfälzischer Förster Beck die im Weinbau so viel verwendete Kupferkalkbrühe zur Bekämpfung der KiefernSchütte benutzt, und zwar mit bestem Erfolg, den auch die eigenen, vielfach variierten Versuche des Verf.'s bestätigen. Dabei erwiesen sich alle Kupferpräparate, die verwendet wurden (Kupferkalk, Kupferzuckerkalk, Kupfersoda) als ziemlich gleich wirksam. Die erste Bespritzung soll im Juli erfolgen, um die Pflanzen vor der Infektion zu schützen. Im August ist die Bespritzung zu wiederholen. In Uebereinstimmung mit den Ergebnissen der Beck'schen Versuche steht auch das weitere Resultat, daß, während ein- und mehrjährige Kiefernpflanzen durch derartige Bespritzungen leicht zu schützen sind, dieselben sich als unwirksam erweisen zum Schutze der Saatbeete, also der diesjährigen Pflanzen. Dem Verf. gelingt es zu zeigen, daß dies auf die Unbenetzbarkeit der Nadeln der Saatbeetpflanzen zur Zeit der Bespritzung zurückzuführen ist, in Folge deren die Spritztropfen nicht haften. Die Nadeln der älteren Pflanzen haben zur Spritzzeit dieses Entwicklungsstadium bereits überwunden und sind benetzbar geworden. Die ausführlichen Mitteilungen des Verf.'s über die in Betracht kommenden Spritzensysteme sind gewiß manchem Praktiker sehr erwünscht, ebenso die Anweisungen zur Herstellung der Bordeauxbrühe und anderer Spritzflüssigkeiten und die Kostenanschläge. Von wissenschaftlichen Interesse sind die Ausführungen über die Wirkungsweise der Kupfermittel im Pflanzenschutz und über die Bedeutung der Gesundheit und Ernährung für die Widerstandskraft der Pflanzen, in denen ein wichtiger Beitrag zur Frage der Disposition zur Pilzerkrankung steckt. In den Düngungsversuchen des Verf.'s (ausgeführt auf Moorboden am Chiemsee) hatte keinerlei Düngung (Kali, Phosphorsäure, Stickstoff, allein und in Kombinationen zu 2 und zu 3) irgendwelchen Einfluß auf das Auftreten der Schütte, sondern der Ernährungszustand der Pflanzen war nur von Einfluß auf die Folgen der Schütte: Die kräftigen Pflanzen überstanden den Nadelverlust leichter als die schwachen, auf welche der letztere vielfach sofort vernichtend wirkte. Verf. wendet sich dann zu dem bekannten günstigen Einfluß der Kupferbespritzungen auf das Wachstum der

bespritzten Pflanzen, den Aderhold bekanntlich auf einen Eisengehalt der zur Bereitung der Brühen verwendeten Substanzen zurückgeführt hat. Tubœuf konnte bei seinen Bespritzungen mit Eisenkalkmischungen keinen Einfluß des Eisens auf den Schüttelebefall feststellen, auch kein besseres Wachstum und üppigeres Grün der so bespritzten Kiefernpflanzen und führt dementsprechend den günstigen Einfluß der Kupferpräparate gegenüber der Kiefern-schütte allein auf die fungicide Wirkung des Kupfers zurück. Verf. wendet sich auf Grund seiner Erfahrungen mit Recht gegen die besonders bei den Praktikern so viel verbreitete Ansicht von der größeren Resistenz üppiger und kräftig wachsender Pflanzen gegen den Pilzbefall.

Endlich bespricht Verf. im dritten Teil eine Reihe von Schädigungen der Kiefer, welche zur Verwechslung mit der Schütte Anlaß gegeben haben oder Anlaß geben könnten. Zunächst wird die Erkrankung durch die Kiefernadelscheiden-Gallmücke (*Diplosis brachyntera* Schwäger.) behandelt, dann eine komplizierte Erkrankung der Kiefernbestände im Regierungsbezirk Lüneburg (1899), die ursprünglich als Schütte aufgefaßt, durch die Untersuchungen des Verf.'s indes als Nadelverlust und Triebsterben aus den verschiedensten Ursachen erkannt wurde (*Diplosis brachyntera*, *Brachonyx Pineti*, Nonnenfraß etc.). Das Triebsterben, bei dem Mycel nicht gefunden wurde, hält Verf. für identisch mit der von Schwarz auf *Cenangium abietis* zurückgeführten Krankheit. Endlich kommt die von Prantl als erstes Zeichen der Infektion durch *Lophodermium* angesehene Goldfleckigkeit der Kiefernadeln zur Behandlung, von der gezeigt wird, daß sie mit einer Pilzinvasion nichts zu thun hat, vielmehr wahrscheinlich auf die Stiche eines kleinen Rüsselkäfers zurückzuführen ist. Vielfach wird von der Praxis auch die blaue Winterfärbung der Kiefer als Zeichen von Schütteerkrankung angesehen.

Zum Schluß folgen die Erhebungen über das Auftreten der Kiefern-schütte und den dadurch herbeigeführten Schaden. Denselben entnehmen wir, daß der Schaden im Deutschen Reich nicht weniger als 287779 M. jährlich beträgt. 7 Tafeln mit Abbildungen der Apothecien des Schüttelepilzes, der Sporenkeimung, der ersten Infektionsstadien, erkrankter Pflanzen und Bestände, der *Hypodermella laricis*, der *Diplosis* und des Triebsterbens in den Lüneburger Kiefernbeständen machen den Beschluß der Arbeit.

Angefügt sind eine Anzahl kleinerer Mitteilungen, zunächst eine Beschreibung des nach den Plänen des Verf.'s gebauten Infektionshauses der biologischen Abteilung zu Dahlem. Es folgt die ausführliche Darstellung des bereits durch eine vorläufige Mitteilung bekannten Nachweises vom Zusammenhange des *Aecidium strobilinum* mit *Pucciniastrum Padi*. Mit dem *Fusoma parasiticum* Tub. (*F. Pini* R. Hartig, *F. blasticola* Rostr.) sind dann Verf. Infektionen von Kieferkeimlingen gelungen. Eine weitere Mitteilung ist der Gattung *Tuberculina*, den bekannten Parasiten der Rostpilze, gewidmet. Verf. zeigt, daß *Tuberculina* — untersucht wurden *T. persicina* und *T. maxima* — keine

Ustilaginee ist, vielmehr ihre Stellung bei den Fungi imperfecti finden muß. Die Sporen werden einzeln von den in dichtem Lager stehenden Conidienträgern abgeschnürt, bilden ein ausstäubendes Pulver und werden durch den Wind verbreitet. Infektionsversuche mit den Sporen des Weymuthskiefernblasenrostes auf Ribes-Arten ergaben positive Resultate bei Ribes aureum, R. nigrum, R. sanguineum, R. rubrum, R. Cynosbati, R. oxycanthoides, R. divaricatum, sowie auf Niederstämmen und jungen Pflanzen von R. grossularia. Nach den Infektionsversuchen des Verf.'s gehört ferner ergiltig zu Gymnosporangium juniperinum (L) die Roestelia cornuta von Sorbus ancuparia und Amelanchier rotundifolia, zu G. tremelloides (R. Hartig) die Roestelia penicillata von Pirus malus, Sorbus aria und S. chamaemespilus. Endlich wird gezeigt, daß die Sporen parasitärer Pilze durch den Wind auf bei weitem größere Entfernungen getragen werden, als man gemeinhin annimmt.

Behrens (Weinsberg).

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Wilfarth, H., Ein neuer Gesichtspunkt zur Bekämpfung der Nematoden. (Zeitschr. d. Ver. der deutschen Zuckerindustrie. 529. Liefg. Febr. 1900. p. 195—204.)

Da des Kostenpunktes wegen die Beseitigung der Heterodera-Schäden durch Fangpflanzenbau oder Einbringung von Chemikalien in den Boden zur Zeit nicht angängig ist, zeigt Verf. den Weg, um den Vorgang der natürlichen Auslese der widerstandsfähigsten Pflanzen im abgekürzten Verfahren durch züchterische Maßnahmen zu ersetzen. Die Gesichtspunkte, welche die Widerstandsfähigkeit der Rübe bedingen, können einmal auf habituellen Eigenschaften ihres Organismus beruhen, die dem Einwandern der Nematoden Hindernisse in den Weg legen, andererseits in der besonderen Energie der Lebensfähigkeit einzelner Individuen liegen, vermöge deren die schädliche Einwirkung der Parasiten überwunden wird. Die Auslese von Individuen beider Gruppen hat von einem Boden zu geschehen, der stark und vor allem ziemlich gleichmäßig mit Nematoden durchsetzt ist, und zwar an Ort und Stelle — nicht etwa nach vollendeter Ernte aus den Mieten. Unter Darlegung seiner eigenen in dieser Richtung unternommenen Versuche fordert Verf. die Züchter, welche über rübenmüde Aecker verfügen, zu praktischer Verfolgung seines Gedankens auf, damit die gewonnenen Ergebnisse mit den feststehenden Erfahrungen über die zweckmäßige Ernährung der Zuckerrübe in Einklang gebracht und damit eine Lösung der Nematodenfrage erreicht werden kann.

Arnold Jacobi (Berlin).

Salfeld, Vernichtet Aetzkalk die Leguminosenpilze auf hohem, leichtem Sandboden? (Hannoversche land- u. forstwirtschaftl. Ztg. Jahrg. LIII. No. 39.)

Bei einem früheren Versuche hatte S. gefunden, daß Leguminosen bei Zusatz von Mergel gut gediehen, bei Zusatz von Aetzkalk jedoch deutlich Stickstoffhunger litten. Die Vermutung, daß Aetzkalk abtötend auf die Knöllchenbakterien einwirke, bestätigten in dieser Richtung ausgeführte Versuche jedoch nicht, so daß S. jenes Resultat nur dadurch erklären zu können glaubt, daß der Kalk eine stärkere Verarmung des Bodens an aufnehmbaren Stickstoffverbindungen herbeigeführt hatte als der Mergel, oder daß die aufgebrauchten Knöllchenbakterien durch andere Einflüsse (Sonnenlicht) abgetötet waren und nun im Mergel neue mit eingebracht wurden, im Kalk jedoch nicht. — Diese Erklärung scheint jedoch die Frage noch nicht genügend zu erschöpfen und wäre es doch wünschenswert, nach dieser Richtung hin noch ausführlichere Untersuchungen anzustellen, vor allem das ursprüngliche Experiment zu wiederholen.

A p p e l (Charlottenburg).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. ARTHUR WÜRZBURG,
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Verslag, beknopt, van de werkzaamheden in het laboratorium voor onderzoekingen op het gebied der pathologische Anatomie en bacteriologie te Weltevreden gedurende het jaar 1899. (Veeartsenijk. blad. v. Nederl.-Indië. 1900. Deel 13. Aflev. 2. p. 93—103.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Boston, L. N., Cultivation of the Aspergillus in urine. (Philad. med. Journ. 1901. No. 9. p. 446—447.)

Hehewerth, F. H., Die mikroskopische Zählungsmethode der Bakterien von Alex. Klein und einige Anwendungen derselben. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXXIX. 1901. Heft 4. p. 321—389.)

Vincent, H., Sur la culture et l'inoculation du bacille fusiforme. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1901. No. 12. p. 339—341.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Berlese, A., Gli acari agrari. 8°. 168 p. Firenze (B. Seeber) 1901. 8 f.

Bienstock, Untersuchungen über die Aetiologie der Eiweißfäulnis. II. Milchfäulnis, Verhinderung der Fäulnis durch Milch, Darmfäulnis. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXXIX. 1901. Heft 4. p. 390—427.)

Bokorny, Th., Ueber das Vorkommen der Zymase im Pflanzenreich und die Selbstgärung der Früchte. (Allg. Brauer- u. Hopfen-Ztg. 1901. No. 65. p. 753.)

Braun, M., Zur Kenntnis der Trematoden der Säugethiere. (Zool. Jahrb., Abt. f. System., Geogr. u. Biol. d. Thiere. Bd. XIV. 1901. Heft 4. p. 311—348.)

Fermi, G. u. Cano-Brusco, U., Untersuchung über das Verhältnis zwischen den morphologischen und den biologischen Eigenschaften der Mikroorganismen. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXIX. 1901. No. 11, p. 473—485.)

- Karlinski, J.**, Zur Kenntnis der säurefesten Bakterien. (Centralbl. f. Bakteriologie. etc. I. Abt. Bd. XXIX. 1901. No. 12. p. 521—530.)
- Laveran et Mesnil, F.**, Sur le mode de multiplication du Trypanosome du Nagana. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1901. No. 12. p. 326—329.)
- Leuckart, E.**, Die Parasiten des Menschen und die von ihnen herrührenden Krankheiten. Ein Hand- u. Lehrbuch f. Naturforscher und Aerzte. 2. Aufl. 1. Bd. 6. Lfg. (Schluß.) Nach dem Tode des Verf. bearb. v. G. Brandes. gr. 8°. XXXI u. p. 735—897 m. Abbild. Leipzig (C. F. Winter) 1901. 6 M.
- Lindau, G.**, Hilfsbuch für das Sammeln parasitischer Pilze, mit Berücksichtigung der Nährpflanzen Deutschlands, Oesterreich-Ungarns, Belgiens, der Schweiz und der Niederlande, nebst einem Anhang über die Tierparasiten. 8°. VI, 90 p. Berlin (Gebrüder Borntraeger) 1901. 1,70 M.
- Mrásek, A.**, Ueber die Larve von *Caryophyllaeus mutabilis* Rud. (Centralbl. f. Bakteriologie. etc. I. Abt. Bd. XXIX. 1901. No. 11. p. 485—491.)
- Piel de Churcheville, H. et Th.**, Sur le Bacillus gallicus Charpent. (Miscellanea entomol. Vol. VIII. 1900. No. 1. p. 3—6.)
- Speiser, P.**, Ueber die Nycteribiiden, Fledermausparasiten aus der Gruppe der pupiparen Dipteren. Diss. gr. 8°. 68 p. m. Abbild. u. 1 Taf. Königsberg (Gräfe & Unzer) 1901. 3 M.
- Voigt, M.**, Mitteilungen aus der Biologischen Station zu Plön, Holstein. Ueber einige bisher unbekannte Süßwasserorganismen. Zool. Anzeiger. 1901. No. 940. p. 191—195.)
- Went, F. A. F. C.**, On the influence of nutrition on the secretion of enzymes by *Monilia sitophila* (Mont.) Sacc. 8°. 14 p. Amsterdam 1901.

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Boden.

- Hiltner, L.**, Zur Kenntnis der Organismenwirkung im Boden und im Stallmist. (Dtische landwirtschaftl. Presse. 1901. No. 24, 25, 27. p. 203—204, 212—213, 231—233.)

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

Milch, Molkerei.

- Tiemann, H.**, Versuch über die Herstellung von Hartkäsen aus pasteurisierter Milch unter Anwendung von Kulturen von Milchsäurebakterien sowie peptonisierenden Bakterien. [Vorl. Mitteil.] (Milch-Ztg. 1901. No. 13. p. 195.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

- Mittensweig**, Genießbarkeit von teilweise verdorbenen Hühnereiern. (Ztschr. f. Medizinalbeamte. 1901. No. 7. p. 265—269.)
- Müller-Thurgau**, Die Pilzflora in den Obstsäften. (Schweiz. Ztschr. f. Obst- u. Weinbau. 1901. No. 5. p. 70—72.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

- Ceccoconi, G.**, Casi di danneggiamenti a piante legnose causati dal *Morimus asper* Sulz. e dal *Lamia textor* L. allo stato di insetti perfetti. (Riv. di patol. vegetale 1899/1900. Vol. VIII. 1901. No. 7/12. p. 219—224.)
- Chiffot, J.**, La maladie noire des climatites à grandes fleurs causées par l'*Heterodera radicola* Greeff. (Semaine hortic. 1900. p. 535—537.)
- Green, E. E.**, Some caterpillar pests of the tea plant. (Circ. Royal gardens, Ceylon 1900. Ser. 1. No. 19. p. 239—265.)
- Guéguen, F.**, Quelques méfaits du *Cladosporium herbarum*. (Bullet. de la soc. mycol. de France. T. XVI. 1900. Fasc. 3. p. 151—155.)
- Hecke, L.**, Eine Bacteriosis des Kohlrabi. [Vorl. Mitteil.] (A. d. Ztschr. f. d. landwirtschaftl. Versuchswesen in Oesterreich.) 1901. gr. 8°. 8 p.
- Jokisch, C.**, Welche Birnensorten bleiben, auf schorfkrankte Bäume veredelt, gesund? (Gartenflora. 1901. Heft 5. p. 129—131.)

- Lowe, V. H.**, Miscellaneous notes on injurious insects. (New York agricult. experim. stat., Geneva, N. Y. Bullet. 1900. No. 180. p. 115—136.)
- Molliard, M.**, Cas de virescence et de fasciation d'origine parasitaire. (Rev. génér. de botan. T. XII. 1900. No. 140. p. 323—327.)
- Montaldini, C.**, Nuova stazione in Italia della Thecaphora capsularum (Fr.) Desm. parassita nei fiori di Convolvulus arvensis L. (Bullett. d. soc. botan. ital. 1901. No. 1. p. 12—13.)
- Munro, A.**, The locust plague and its suppression. (Rep. of the 70. meet. of the Brit. assoc. f. advance. of science. 1901. p. 798—799.)
- Noel, F.**, Le puceron du pêcher (Aphis Persicae). (Naturaliste. 1901. No. 336. p. 54—56.)
- Notizie ed istruzioni sulle cocciniglie, che attaccano gli agrumi in Italia e sul modo di combatterle. (Bollett. di notizie agrar. 1901. No. 2. p. 48—57.)
- Ormerod, E. A.**, Observations of injurious insects and common farm pests during the year 1900. With methods of prevention and remedy. Roy.-8°. London (Simpkin) 1901. 1 ab 6 d.
- Sajó, K.**, Roggenschädlinge unter den Schnabelkerfen. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XI. 1901. Heft 1. p. 31.)
- Smith, E. F.**, Wakker's hyacinth germ, Pseudomonas Hyacinthi (Wakker). (U. S. Departm. of Agricult. Divis. of vegetable physiol. and pathol. 1901. Bullet. No. 26.) 8°. 45 p. Washington 1901.
- Stewart, F. C.**, An anthracnose and a stem rot of the cultivated snapdragon, Antirrhinum majus L. (New York agricult. experim. stat. Geneva, N. Y. 1900. Bullet. No. 179. p. 105—110.)

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

- Lowe, V. H.**, A fumigator for small orchard trees. (New York agricult. experim. stat., Geneva, N. Y. Bullet. 1900. No. 181. p. 138—142.)
- Weiss**, Zur Frage der Wirkungsweise der Kupferbrühen. (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1901. Heft 3. p. 21—23.)
- Zirngiebl, H.**, Petroleumemulsion. (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1901. Heft 2. p. 14—15.)

Inhalt.

Originalmittellungen.

- Richter, Andreas**, Zur Frage der chemischen Reizmittel. (Orig.), p. 417.
- Gottheil, O.**, Botanische Beschreibung einiger Bodenbakterien. (Orig.), p. 430.
- Loew, O.**, Eine Bemerkung zu den Ansichten über die Natur der Zymase. (Orig.), p. 436.

Referate.

- Bokorny, Th.**, Vergleichende Bemerkungen über die spontane und die durch Lab bewirkte Milchgerinnung (Milchsäureferment und Labferment), p. 437.
- Will, H.**, Einige Beobachtungen über die Lebensdauer getrockneter Hefe, p. 438.

Heinselmann, G., Schimmeliges Malz, p. 438.

Hansen, Emil Chr., Recherches sur les bactéries acétifiantes, p. 438.

Tubeuf, Frhr. von, Studien über die Schüttelkrankheit der Kiefer, p. 440.

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Wilfarth, H., Ein neuer Gesichtspunkt zur Bekämpfung der Nematoden, p. 445.

Salfeld, Vernichtet Aetzkalk die Leguminosenpilze auf hohem, leichtem Sandboden?, p. 446.

Neue Litteratur, p. 446.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Prof. Dr. J. Behrens in Weinsberg i. W.,
Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Dr. v. Freudenreich in Bern, Privatdocent
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Dr. G. Harris Morris
in London, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädensweil, Dr. Erwin F. Smith in
Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr.,
Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel
und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Berlin

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VII. Band.

Jena, den 10. Juni 1901.

No. 13.

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 90 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnnummer 1 Mark 50 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Botanische Beschreibung einiger Bodenbakterien.

**Beiträge zur Methode der Speciesbestimmung und Vorarbeit
für die Entscheidung der Frage nach der Bedeutung der Boden-
bakterien für die Landwirtschaft.**

Von Dr. O. Gotthell.

Mit 4 Tafeln.

(Fortsetzung.)

Ueber die Schnelligkeit und Form der Verflüssigung der
Gelatine, wie über die Wuchsform der Kolonien im Gelatine-

stich habe ich folgendes zu erwähnen. Die Zeitangaben über Verflüssigung der Gelatine, welche häufig in den Beschreibungen für die Plattenkultur und Gelatinekultur gemacht sind, sind als sicheres diagnostisches Merkmal nicht zu gebrauchen, da die Zeit, in welcher die Verflüssigung eintritt, von zu vielen, nicht genau zu präzisierenden Umständen abhängt. Als diagnostisches Merkmal hat nur die Angabe sicheren Wert, daß eine Species überhaupt Gelatine verflüssigt; selbst die negative Angabe in der Litteratur ist nicht immer sicher zu verwerten. Ich verweise nochmals auf die Angaben von Matzschita (1900) und auf meine Beobachtungen über das Verhalten der Gelatinestichkulturen von *Bacillus mycoides*.

Das Aussehen der Gelatinestichkultur kann für ein und dieselbe Species außerordentlich variieren. Ob Ausstrahlungen vom Stich in die Gelatine seitlich eintreten, hängt z. B. zuerst von der Konsistenz der Gelatine, von der Temperatur und auch davon ab, ob man Sporenmaterial oder eine andere Entwicklungsstufe der Bakterien auf impft. Gleichzeitig ist die Art der Verflüssigung, welche durch eine und dieselbe Species bewirkt wird, oft verschieden, so z. B. nach der Richtung hin, ob erst Verflüssigung oberflächlich bis zur Glaswand sich ausbreitend und weiter cylindrisch fortschreitet oder vielleicht keil- oder mehr schlauchförmige Verflüssigung eintritt etc. Nur in seltenen Fällen sind die Art der Entwicklung der Kolonien in der Stichkultur und die Art der Verflüssigung als immerhin wenig wertvolle Kennzeichen zu benutzen.

Die Kulturen ein und derselben Species auf der Agarfläche zeigten oft Verschiedenheiten in der Schleimbildung, und somit oft mehr dickeren homogenen oder flachen, auch mehr oder weniger häutigen Charakter. Von größtem Wert ist es für die Konstanz des Aussehens der Agarkulturen, stets von abgekochtem Sporenmaterial auszugehen, da das Aussehen der Kulturen selbstverständlich anders ausfallen muß, wenn man verschiedene Entwicklungsstadien in günstigere Ernährungsverhältnisse versetzt.

Die Morphologie der Kulturen auf sterilen Pflanzenteilen, wie z. B. sterilen Möhren- und Kartoffelscheiben, wird sehr durch den größeren oder geringeren Wassergehalt beeinflusst; der Wuchs auf relativ feuchtem Nährboden ist glatter, auf trockenem runzlicher. Andererseits fällt die Morphologie der Kulturen verschiedenartig aus, wenn die in den betreffenden sterilen Reservestoffbehältern enthaltenen Nährstoffe variieren. Die Art der Nährstoffe und der Gehalt an Reservestoffen variiert aber sehr je nach der Reife und der Zeit der Benutzung der Reservestoffbehälter.

Hieraus geht hervor, daß die Kulturen auf sterilen Pflanzenteilen nur dann als Mittel zur Unterscheidung zweier Species dienen kann, wenn man gleiche Stücke eines Pflanzenteiles direkt mit den beiden Species impft und die Kulturen dann direkt vergleicht. Dagegen haben die Beschreibungen dieser Kulturen für die Charakterisierung der Species, selbst unter sehr sorgfältiger Berücksichtigung aller genannten Verhältnisse, nur äußerst geringen Wert. Nach diesen Erörterungen wird es selbstverständlich, daß

dann, wenn das Verhalten eines Bakteriums mit einer Beschreibung vollständig übereinstimmt, nur das beobachtete Aussehen der Kolonie auf einer betreffenden sterilen Pflanzenscheibe nicht auf die Beschreibung paßt, noch kein Grund vorhanden ist, anzunehmen, daß eine andere Species vorläge.

Um möglichst brauchbare Merkmale zu erhalten, habe ich selbst nun folgende Punkte bei der Herstellung der Kulturen im Auge behalten. Die Sporen habe ich stets vor der Ausführung einer Kultur abgekocht und zwar in der Weise, daß ich im Reagenzglas $\frac{1}{2}$ ccm sterilen Wassers mit einigen Oesen Sporenmaterials impfte und dasselbe dann ungefähr 1 Minute lang im kochenden Wasserbade abkochte. Auch bei Ausführung der Kulturen in Nährlösung, welche zur Beschreibung des Entwicklungsganges dienen, benutzte ich abgekochtes Sporenmaterial. Hervorheben möchte ich hier noch die Beobachtung, daß längere Zeit 2—3 Minuten lang abgekochte Sporen langsamer keimen. Das Sporenmaterial war stets mehrere Monate alt und hatte sich auf Agar + 1 Proz. Dextrose entwickelt. Es stammte stets von Material, welches längere Zeit in Kultur auf Dextroseagar gehalten worden war. Letzteres ist bei der Benutzung der Beschreibungen zu berücksichtigen. Ich habe den Hauptwert auf die Beschreibung der Agarkulturen gelegt, da der Nähragar immer noch konstanter als die Nährgelatine und die Pflanzenteile ausfällt. Die Agarkulturen habe ich stets bei einer konstanten Temperatur von 28° auf neutralem bis schwach alkalischem Agar, mit genügendem Kondenswasser, welcher genau nach der auf p. 3 angegebenen Vorschrift bereitet war, wachsen lassen. Die Gelatine, Möhren- und Kartoffelkulturen sind bei Zimmertemperatur gehalten worden. Ich habe besonderen Wert darauf gelegt, das Aussehen der Kolonien zu verschiedener, genau angegebener Zeit der Entwicklung der Kulturen zu beschreiben. Als Möhrenmaterial habe ich möglichst alte, ausgereifte Wurzeln benutzt und alle Scheiben der Reservestoffbehälter wurden in Petri-Schalen gehalten.

2) Ueber Schleimbildung.

Für das Aussehen der Kolonien ist selbstverständlich auch der Grad der Schleimbildung von großer Bedeutung. Die Intensität der Schleimbildung könnte durch innere Ursachen, Variation der Species, oder durch äußere Ursachen bewirkt werden. Ob die Schleimbildung von inneren Ursachen wesentlich abhängig sein kann, wissen wir nicht sicher. Die Friedländer'schen Pneumoniobacillen sollen nach Wiede in einer kleineren und weniger schleimbildenden Spielart auftreten können. (Kruse 1896. I. Teil. p. 482.) Ueber eine äußere Ursache des Wuchses der Schleimbildung, über die Einwirkung des Zuckers auf die Schleimbildung, sind wir gut unterrichtet. Schon Billroth (1879) hat gefunden, daß Zucker die Schleimbildung begünstigt. Prazmowski (1880. p. 46) hat für *Bacillus subtilis* etc. beobachtet, daß den Nährsubstraten zugesetzte Zuckerarten einen begünstigenden Einfluß auf die Schleimbildung ausüben. Ritsert (1892. p. 730) und Happ (1893. p. 175)

zeigten, daß die von ihnen untersuchten Species nur in zuckerhaltigen Nährsubstraten Schleim bilden. Ein Zusatz von 10 Proz. Rohrzucker gab die besten Resultate. Besonders wichtig aber sind die Versuche von Zopf und Liesenberg (1892. p. 2 und p. 8) mit *Leuconostoc mesenteroides* für diese Frage.

Leuconostoc erzeugt auf dextrosehaltiger oder rohrzuckerhaltiger Nährgelatine glänzende Gallertmassen, welche aus Zellen mit dicker Gallertmembran bestehen; auf gekochten Kartoffeln oder auf zuckerfreier Nährgelatine nur einen milchweißen Belag, welcher aus dünnwandigen Zellen gebildet wird. Ich fand z. B., daß *Bacillus tumescens* und *Bacillus ruminatus* auf Agar + 1 Proz. Dextrose + 5 Proz. Rohrzucker, wie auch auf Möhrenscheiben stets viel stärkere Schleimmassen, als auf Agar ohne Rohrzucker und Dextrose oder mit 1 Proz. Dextrose entwickelten. Außerdem beobachtete ich aber auch, daß frisch von einem Nährboden isolierte Bakterien anfangs schleimigere Kolonien bildeten, als nach öfterem Umimpfen in fortgesetzter Kultur auf 1 Proz. Dextroseagar bei 28°. So waren beispielsweise sehr häufig die zuerst sich entwickelnden Kolonien von *Bacillus tumescens*, welcher von *Brassica Rapa.*, *Beta lutea*- und *Daucus Carota*-Wurzeln isoliert worden war, außerordentlich stark schleimig, erst die zweiten, aus abgekochten Sporen erhaltenen Agarkolonien zeigten den geringeren Grad der Schleimbildung, der sich bei 4 Jahre langer Kultur der Species im Laboratorium konstant erhielt. Ob diese Veränderung auf Varietätenbildung oder auf direkter Wirkung von äußeren Einflüssen beruht, weiß ich nicht. Die schleimbildenden Bakterien species wuchsen übrigens immer am besten in kohlehydrathaltigen Nährlösungen. Die Schleimbildung ist als diagnostisches Merkmal zu verwenden, doch ist dabei der Grad der Variation, den die Schleimbildung einer bestimmten Species unter verschiedenen Verhältnissen erleidet, nach Möglichkeit zu erforschen und zu beschreiben.

3) Entwicklungsintensität in den verschiedenen Nährlösungen.

Bei den Untersuchungen über die Entwicklungsintensität der Species in den verschiedenen Nährlösungen wurde zuerst darauf Rücksicht genommen, daß alle Kulturen in Reagenzgläsern von ungefähr 1,5 cm Durchmesser und 15 cm Länge ausgeführt wurden und mit stets nur 5 ccm Lösung, da die Sauerstoffzufuhr und die Menge des Nährsubstrates für den Verlauf der Entwicklung von Bedeutung sind. Geimpft wurde mit stets möglichst gleichen Mengen Stäbchenmaterials, welches sich auf Agar aus abgekochten Sporen nach 16—20 Stunden bei 28° entwickelt hatte. Von Sporen ging ich deshalb nicht aus, weil die Keimung in vielen Nährlösungen sehr ungleichmäßig und unsicher eintritt. Ich fand, daß häufig zu hohe Konzentration der Nährlösung der Grund für das Nichtkeimen war, während Fischer (1895. p. 52) bei sinkendem Nährwert der Lösung ein Unregelmäßigwerden der Keimung eintreten sah. Die Temperatur, bei welcher die Kulturen gehalten wurden, betrug 28°. Die Bedeutung der Zahlen 0 — 1 — 2 — 3 — 4

ist die folgende: 0 = keine Entwicklung, Lösung vollständig klar; 1 = schwach, kaum Entwicklung vorhanden, Lösung meist schwach opaleszierend; 2 = Entwicklung, Lösung meist deutlich trübe, mikroskopisch normale Stäbchen; 3 = stärkere Entwicklung, Lösung stark getrübt; 4 = sehr starke Entwicklung, Lösung meist dick, undurchsichtig. Die Bezeichnungen 0 bis 4 geben für jede Species die Entwicklungsgrade in den verschiedenen Nährlösungen vergleichend an. Die Angaben für verschiedene Species sind aber nicht ohne weiteres untereinander zu vergleichen. So z. B. bedeutet 3 für die eine Species nicht eine absolut stärkere Entwicklung, als 4 für eine andere. Die relative Entwicklungstärke ein und derselben Species in den verschiedenen Nährlösungen ist als diagnostisches Merkmal gut zu verwenden. Als unterscheidendes Merkmal zweier Species kann es ferner nach meiner Erfahrung noch gelten, wenn sich eine Species in einer bestimmten Lösung nicht (0) entwickelt, oder kaum (1), die Entwicklungsstärke in einer anderen Lösung dagegen mit 3 oder 4 zu bezeichnen ist. Dagegen ist auf die Unterschiede zwischen 1 und 2, 3 und 2 weniger Wert zu legen, so daß man also als einfachsten Ausdruck setzen kann, die eine Species entwickelt sich nicht, die andere gut.

Selbstverständlich ist bei dieser Frage nicht außer Acht zu lassen, daß die Bakterienspecies mehr oder weniger befähigt sind, sich an die Nährlösungen anzupassen und daß sie eventuell auch Varietäten bilden können, welche sich etwas verschieden gegen Nährlösungen verhalten.

Auch bei meinen Versuchen beobachtete ich, daß einige Bakterien, welche sich anfangs in einigen Nährlösungen nicht entwickelten, nach längerer Kultivierung auf Agar mit Dextrose in den betreffenden Nährlösungen Entwicklung zeigten. Erwähnen will ich z. B. auch die Beobachtung, daß Stäbchenmaterial von *Bac. graveolens*, α und α in Nährlösung V β nach 8—14 Tagen (bei 28°) keine Weiterentwicklung zeigten, obgleich bei Impfung auf Agar die in der Nährlösung befindlichen Stäbchen sich lebhaft entwickelten. Nach 4 Wochen jedoch war eine schwache Vermehrung der Species in der Nährlösung eingetreten.

4) Wuchsformen in den Nährlösungen.

Die Schleimbildung und damit verbunden die Randbildung in den Nährlösungen war bei Sorten ein und derselben Species, welche von verschiedenem Substrat isoliert worden waren, öfters ungleichmäßig, und ebenso auch die gebildete Kahlhaut oft mehr trocken schwach, runzlig oder mehr dick, glatt schleimig. Anscheinend hängt das Aussehen der Kahlhaut wesentlich von der Intensität und Art der Schleimbildung ab, ähnlich wie das ja auch bei den Kolonien auf Agar der Fall zu sein scheint. Die Bildung einer Kahlhaut in einer bestimmten Lösung findet oft nicht gleichmäßig statt. Wenn starke Kahlhautbildung in einer Lösung als konstant wiederkehrend zu beobachten ist, wie z. B. bei *Bacillus subtilis* in Nährlösung X, so ist diese Erscheinung als diagnostisches Merkmal gut zu gebrauchen. Die Sporenbildung findet in den Nährlösungen, wenigstens bei den stark aëroben Formen, oft schlecht

oder fast gar nicht statt, wenn die eventuell gebildete Kahlhaut abgeschüttelt wird. Innerhalb der Kahlhaut bilden sich meist nach mehreren Tagen bei 28° normale Sporen aus, und es scheint demnach die Sporenbildung oft wesentlich von der Gegenwart des Sauerstoffs abhängig zu sein. In den Nährlösungen, in denen eine sehr starke Entwicklung stattfand, ging die Sporenbildung schlecht, oft auch gar nicht vor sich, in den Lösungen aber, in welchen eine Weiterentwicklung der geimpften Stäbchen nicht eingetreten war, bildeten sich schnell Sporen. Ähnliches hat auch Schreiber (1896) beobachtet. Da die Sporenbildung in den Nährlösungen außerordentlich schwankt, sind die Beobachtungen über den Eintritt derselben für die Diagnose meistens ohne Wert.

5) Morphologie.

a) Untersuchung der Sporen. Sehr wichtig für die Diagnosen der Species ist die genaue Beschreibung der Sporen. Es sind dabei die Form und Größe der Sporen und der Bau der Sporenmembran zu beachten. α) Form und Größe der Sporen: Es ist vor allem bei der Schilderung der Sporengröße und Sporenform sehr großer Wert darauf zu legen, daß alle verschiedenen Größenverhältnisse und Formverhältnisse, welche infolge der Variabilität der Species in der Kultur auftreten, geschildert werden, daß aber zugleich betont werde, welche Form und Größe die häufigste, die normalste von allen ist, außerdem halte ich es für wichtig, diese Beobachtungen stets an gleichmäßig gut auf Agar + 1 Proz. Dextrose entwickelten Sporen auszuführen, die von noch feuchtem, nicht von eingetrocknetem Agar entnommen werden müssen. β) Untersuchung der Sporenmembran. Eine genauere Untersuchung über Bakteriensporen findet man in der Arbeit von Herrn Prof. Meyer über *Bacillus asterosporus* (Flora. 1897. p. 190). An den Sporen von *Bacillus asterosporus* hat er nachgewiesen, daß die Membran der Bakteriensporen aus einer Exine und einer Intine besteht, und daß die Exine eine äußerst feine Struktur besitzen kann. Mit Hilfe der von ihm angewandten Reagentien, wie Jod, Chlorzinkjod, Fuchsin, Methylenblau und Safranin, habe ich versucht, möglichst genau festzustellen, ob an der Exine der verschiedenen Sporen Leisten, wie bei *Bac. asterosporus* oder Spitzen, wie bei *Bac. tumescens* oder andere Struktureigentümlichkeiten vorhanden seien. Weiterhin habe ich gleichzeitig die Membranausbildung untersucht, z. B. die Dicke der Membran, ob Exine und Intine deutlich zu unterscheiden sind, oder ob mit Immersion Zeiß $\frac{1}{1,2}$, Ap. 1,3 nur eine dünne, einheitlich aussehende Sporenmembran zu erkennen ist. Mit stärkeren Immersionen habe ich die Sporen absichtlich nicht untersucht, um die Bestimmung der Species nicht zu sehr zu erschweren. Ich will jedoch bemerken, daß ich da, wo ich genauer mit stärkeren Systemen untersuchte, allermeist eine Differenzierung in Exine und Intine fand. Wenn, wie bei *Bacillus ruminatus*, die Sporen fast stets von einer breiten Schleimhülle, oder wie bei *Bacillus mycoides* und *Bacillus Ellenbachensis* sehr häufig von der Sporangienmembran umgeben sind, so können diese Erscheinungen für die Charakterisierung der Species mit benutzt werden.

Einer besonderen Prüfung schien mir die Angabe von Burchard zu bedürfen, daß bei *Bact. Petroselini* zwei Sporenhäute abgeworfen wurden. Ich kam auf die Vermutung, daß die von Burchard als äußere Sporenmembran bezeichnete Haut die Sporangienmembran gewesen sein könne und ließ mir deshalb von Král eine Kultur von *Bact. Petroselini* kommen. Dieselbe stammte nach Angabe von Herrn Král vom Autor der Species. Ich will zugleich bemerken, daß die Eigenschaften des in der Kultur vorhandenen Spaltpilzes völlig mit denen von Burchard angegebenen übereinstimmten, daß es mir gelang, den Spaltpilz zum Schwärmen zu bringen. Schließlich stellte sich heraus, daß die Species mit *Bacillus Ellenbachensis* identisch und daß in der That meine Annahme über die Sporenkeimung richtig war. Da die von Burchard behauptete Thatsache allgemeines Interesse hat, will ich genauer auf sie eingehen. Ueber die Keimung und das Abwerfen der Sporenhäute sagt Burchard (1898) p. 40 folgendes:

„Bei 6 bemerkte ich bei genauer Einstellung eine verschiedenartige Lichtbrechung innerhalb der alten Sporenhaut. Ein darauffin dem Brutschrank entnommenes Präparat wurde unter Zeiß Achromat 2 mm genauer untersucht, und es zeigte sich, wie vermutet, daß in der That zwei Sporenhäute vorhanden waren. Auch fiel mir auf, daß bei d 1, 2, 3 und 4 die Zahl der abgestreiften Häute größer war als die der Bakterien. Fig. e bringt eine nach Zeiß Achromat 2 mm gezeichnete Stelle des Präparates, an welchem man die einzelnen Phasen der Lockerung und Abstoßung der beiden Häute genau verfolgen kann. Die äußere Haut ist, wie aus der Art der Lichtbrechung hervorgeht, die derbere, die innere die zartere. Bei e α zeigt sich genau wie bei d 6, daß die äußere Haut dunkler, die innere heller als das Bakterium ist; bei e β ist die äußere Haut abgestreift, die innere hängt noch dem Stäbchen an. Bei e γ sind beide Häute abgestoßen und man unterscheidet deutlich eine hellere (die Intine), dem Ende des Stäbchens näher liegende, und eine dunklere (die Exine), welche weiter nach dem Ende des Stäbchens hinaufgeschoben ist. Dieses letztere Bild (e γ) besonders fand sich bei genauer Durchmusterung der Präparate häufig vor, und zwar stets die eine Haut heller als die andere. Meistens lagen die Häute sichelförmig bei einander, respektive untereinander.“

Ich habe die Angabe von Burchard nachgeprüft und gefunden, daß die Beobachtungen von Burchard nicht unrichtig sind. Es läßt sich jedoch leicht feststellen, daß bei dem Burchard'schen Material, wie bei *B. Ellenbachensis* die Sporangienmembran oft längere Zeit erhalten bleibt und dann bei der Keimung mit der Sporenmembran abgestoßen wird. Man erhält dann leicht Bilder, wie ich eines in Fig. XIV dargestellt habe. Die Sporangienmembran erscheint unschärfer konturiert als die Sporenmembran. Die in Fig. α , β bei Burchard abgebildete dunklere, isoliert liegende Haut ist die Sporangienmembran, die an dem Pole des Stäbchens sitzende Haut ist die Sporenmembran. In meiner Fig. XIV ist α die Sporenmembran, β die Sporangienmembran.

In dem 1897 erschienenen Buche „System der Bakterien“ sagt Migula p. 191 über diese Beobachtung Burchard's: „Interessant ist auch, daß Burchard bei *Bact. Petroselini* eine äußere dunklere und eine innere hellere Sporenhaut, die beide nacheinander abgeworfen werden, nachweisen konnte, eine Erscheinung, von deren Vorhandensein ich mich bei einer gelegentlichen Nachuntersuchung überzeugen konnte“ (Taf. VI, Fig. 28).

Die Figur, welche Migula giebt und auf welche sich die Angabe von Arthur Meyer, 1897. p. 219, bezieht, ist stark schematisiert.

Die Arbeit von Arthur Meyer, in welcher zum ersten Male auf p. 191 und 218 eine Exine und Intine bei den Sporen der Spaltpilze beschrieben ist, ist 1897 erschienen. In der 1898 gedruckten Arbeit von Burchard wird, wie referiert, p. 40 die Sporangienmembran als Exine und die Sporenmembran als Intine bezeichnet. Eine Exine und Intine ist also bis dahin weder von Burchard noch von Migula bei einer Bakterienart beobachtet worden. Danach ist auch die Angabe in dem Referat über die Burchard'sche Arbeit von Migula (1900), welche sich auf Exine und Intine bezieht, zu beurteilen.

b) Untersuchung der Keimung der Sporen. Burchard (1898) sagt in seinen Untersuchungen, „Beiträge zur Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Bakterien“: „Die Sporenkeimung verläuft für jede Bakterienart in durchaus unveränderlicher, charakteristischer Weise. Die Sporenkeimung ist daher das sicherste diagnostische Hilfsmittel zur Erkennung der Art.“ Mühlshlegel (1900) meint dagegen, „wenn das Ektosporium ringsherum gleich stark ist, darf es nicht verwundern, wenn bei ein und derselben Bacillenart die Keimung auf verschiedene Weise erfolgt. Schon Pommer hat an seinem *Bacillus brassicae* gefunden, daß die Sporenhaut nicht immer an ein und derselben Stelle durchbrochen wird, sondern manchmal am Pol, manchmal am Äquator oder auch an anderen dazwischen liegenden Punkten. Und neuerdings hat Grethe (1897) an einem aus einem Papagei gezüchteten *Bacillus* die Keimung manchmal zweifellos seitlich, manchmal nur polar, meistens dazwischen liegend erfolgen sehen, ferner von Heubacillen ebenfalls alle Uebergänge von der äquatorialen bis zur polaren Keimung konstatieren können. Durch diesen letzten Befund erklären sich auch die auseinander gehenden Beobachtungen von so bewährten Forschern, wie Cohn und Prazmowski. Jener sah die Sporen des *Bacillus subtilis* polar, dieser äquatorial auskeimen. Und die Angaben über verschiedenartige Auskeimung scheinen sich zu mehren. Angesichts eines solchen Wechsels lassen sich die Verschiedenheiten der Keimungsvorgänge nicht zu den wichtigsten und unveränderlichsten Artmerkmalen zählen und differentialdiagnostisch kaum verwerten.“ Meine Untersuchungen haben gezeigt, daß die Art der Sporenkeimung für die Bestimmung eines Bakteriums von Wert ist, vorausgesetzt, daß (wie es unserem Leitsatze entspricht) der betreffende Untersucher alle Arten der Keimung, welche bei einer Species vorkommen können, genügend berücksichtigt. In den Untersuchungen von Burchard scheint mir letzteres nicht ausreichend geschehen zu sein. Auch die Größe der kurz vor der Keimung befindlichen Sporen kann zur Charakterisierung beitragen.

An den von mir untersuchten Bakterien konnte ich folgende Keimungen beobachten: 1) polare; 2) bipolare; 3a) seitliche, äquatoriale, mit einseitigem Aufreißen der Membran, Kei-

mung mit Kurzstäbchen; 3b) seitliche, äquatoriale, mit ringsum erfolgreichem Aufreißen der Membran, Streckung des Keimstäbchens, Sporenmembran als Kappen an den Polen des Stäbchens festhaftend; 3c) seitliche, äquatoriale, mit einseitigem Aufreißen der Membran, schnellem Wachstum des Keimstäbchens innerhalb der sich nicht gleichmäßig mit ausdehnenden Sporenmembran, Keimung mit längeren Stäbchen und zwar kommaförmig. Wenn also bei einem Bakterium die verschiedenen Arten der Keimung vorkommen, so ist es unbedingt notwendig, daß alle Arten der Keimung geschildert werden, und daß eventuell hervorgehoben wird, welche Keimungsart die häufigste von allen ist.

c) Untersuchung der Keimstäbchen. Bei der Beschreibung der Zellfäden, Stäbe und Zellen habe ich mich an die Definitionen, welche Herr Prof. Meyer (1899. p. 463) gegeben hat, angeschlossen und verweise ich bezüglich der Ausdrücke Stäbigkeit, 1-lang, 2-lang etc. auf diese grundlegende Arbeit. Unter Keimstäbchen verstehe ich, nach Vorschlag des Herrn Prof. Meyer, das aus einer Spore sich entwickelnde Stäbchen, so lange es noch nicht septiert ist, also selbst mit Hilfe von Chlorzinkjodlösung keine Septen erkennen läßt. Von den Eigenschaften dieser Keimstäbchen kann man folgende als diagnostische Merkmale benutzen: 1) die vorkommende Länge und Breite der Keimstäbchen; es ist jedoch darauf zu achten, daß, so wie die Größen der Sporen ein und derselben Species variieren, auch die der Keimstäbchen, wahrscheinlich je nach der Dicke der betreffenden Sporen, variieren können. 2) ist zu untersuchen, ob die Keimstäbchen sofort nach dem Abstreifen der Sporenmembran schwärmen oder erst nach einiger Zeit der Ruhe oder überhaupt nicht. So giebt z. B. Fischer (1895) für *Bacillus subtilis* p. 108 an, daß die Keimstäbchen nicht sofort schwärmen und Herr Prof. A. Meyer für *Bacillus asterosporus* (1897. p. 193), daß die aus der Spore herauschlüpfenden Stäbchen sofort zu schwärmen beginnen. Es ist jedoch nach meiner Erfahrung unbedingt notwendig, in der Beschreibung eines neu zu bestimmenden Bakteriums genau anzugeben, ob das Schwärmen in einer betr. Nährlösung in der feuchten Kammer oder auf dem Objektträger oder an Bakterien, welche sich im Kondenswasser einer Agarkolonie entwickelt haben, beobachtet worden ist.

d) Entwicklungsgeschichte der Zellfäden. Der Zerfall der Zellfäden in Stäbchen ist selbstverständlich für ein und dieselbe Species selbst auf stets gleichem Nährboden niemals eine absolut gleiche Zeit nach der Keimung wiederzutreffen, da ja, wie bekannt, der Zerfall der Zellfäden, welcher durch die verschiedenartigsten Umstände beeinflußt wird, einmal schneller und einmal langsamer von statten gehen kann.

Wesentlich von Einfluß für den Zerfall der Zellfäden ist die angewandte Temperatur und die Reaktion des Nährbodens. Deshalb hebe ich hier nochmals hervor, daß meine Untersuchungen alle auf neutralem, bis höchstens schwach alkalischem Agar mit 1 Proz. Dextrose und bei 28° ausgeführt sind, wenn

nicht ausdrücklich etwas anderes angegeben ist. Schreiber (1896) machte ferner „die Beobachtung, daß in Kochsalz- und Soda-lösungen, sowie bei Züchtung unter Luftabschluß kürzere Glieder auftreten“. Immerhin ist eine möglichst genaue Beschreibung über Zelligkeit und Stäbigkeit, wie über die vorkommende Länge der Zellen, Stäbe und Zellfäden, unter exakten Angaben der Kulturverhältnisse, unerlässlich, da es vorkommt, wie z. B. bei *Bacillus mycoides* und *Bacillus Ellenbachensis*, daß nur durch genaue Angaben dieser Verhältnisse zwei verschiedene Bakterien gut unterschieden werden können. So ist eine genaue Schilderung des Zerfalls der Zellfäden für die Diagnose von nicht zu unterschätzendem Wert.

Von einiger Wichtigkeit ist bei der Entwicklung eines Bakteriums auch die Beobachtung der Involutionsformbildung, da selbst auf nicht ganz konstantem Nährboden bestimmter Art, wie z. B. auf Möhre, bestimmte Involutionsformen wiederkehren.

e) Ueber die normale Entwicklung der Sporangien. Bei bestimmter Temperatur und unter bestimmten, sich gleich bleibenden Ernährungsverhältnissen bleibt die Zeit, nach welcher der Beginn der Sporenbildung eintritt, für eine Species meistens einigermaßen konstant. Daß die Schnelligkeit der Sporenbildung von der Temperatur abhängig ist, ist bekannt (siehe z. B. Schreiber. 1896). Auch ich fand z. B. für *Bacillus cohaerens*, daß derselbe bei 28° nach 4 Tagen, bei 17—18° dagegen erst nach 12 Tagen Sporen entwickelt hatte; daß auch sehr oft das Austrocknen des Agars für die Ausbildung der Sporen von Einfluß ist, geht erstens daraus hervor, daß bei vielen Bakterien zuerst in den oberen trockneren Teilen der Agarkolonien Sporen ausgebildet werden und zweitens aus einem Versuch mit *Bacillus Carotarium*, welcher auf normalen, an Kondenswasser reichem Agar nach 4—5 Tagen, auf kondenswasserfreiem, also stark ausgetrocknetem Agar, dagegen bereits nach 30—36 Stunden Sporen entwickelte. Oefters zeigte eine Species, je nachdem sie von einem oder dem anderen Substrat isoliert war, bezüglich des Beginnens der Sporenbildung Zeitdifferenzen. Genaue Angaben über die Zeit, welche von der Aussaat der Sporen bis zur Sporenbildung verläuft, sind unter Rücksichtnahme auf alle angeführten Verhältnisse für die Diagnose von einigem Wert. Die Form und Größe der reifen Sporangien, welche bei ein und derselben Species sehr variieren können, bilden ein vorzügliches diagnostisches Merkmal, wenn bei der Beschreibung der Sporangien auf die bei einer Species vorkommenden Variationen der Sporangien Rücksicht genommen wird.

f) Ueber den Zerfall der sporenbildenden Zellfäden. Wie es sich aus den Untersuchungen ergeben hat, ist es für die Diagnose oft wertvoll, festzustellen, ob unter bestimmten Verhältnissen zu einer bestimmten Zeit aus einlangen Sporangien bestehende, nicht stäbige, Zellfäden oder stäbige Zellfäden mit aus ein oder aus mehr Sporangien bestehenden Stäbchen, oder Zerfall in Einzelsporangien und in aus 2 und mehr Sporangien bestehende Stäbchen vorherrschen. So finden wir z. B. bei *Bac. mycoides*

auf schrägem Agar mit 1 Proz. Dextrose erst lange, meistens aus einlangen Sporangien bestehende, nicht stäbige Zellfäden; es geht also der Zerfall der Zellfäden „in Stäbe“ langsam von statten, während bei *Bac. Ellenbachensis* nach gleicher Zeit vorherrschend vielstäbige Zellfäden, mit aus meist 1—2 Sporangien bestehenden Stäbchen, wie Zerfall in Einzelsporangien vorkommen.

g) Ueber das Schwärmen der Sporangien. Es ist bekannt, daß es Species giebt, deren Sporangien fast stets lebhaft schwärmend getroffen werden und solche, bei denen das Schwärmen nur unter besonderen Verhältnissen stattfindet (Arthur Meyer, 1899. p. 464). Die von mir untersuchten Species zeigten auf Agar keine schwärmenden Sporangien. Eine Ausnahme bildete *Bacillus graveolens*, welcher in allen angesetzten Agarkolonieen, nach ungefähr 20—24 Stunden lebhaft schwärmende Sporangien aufwies. Diese Erscheinung ist, wenn sie bei einer Species, unter den gleichen Bedingungen stets wiederzufinden ist, für die Diagnose zu verwenden, doch muß man die gleiche Vorsicht in der Beurteilung der Fälle anwenden, welche ich im Folgenden für die Schwärmer empfohlen habe.

6) Ueber das Schwärmen der Bakterien und die Begeißelung derselben.

Das Schwärmen der Bakterien hängt ja, wie allgemein bekannt, von den verschiedensten Umständen ab; außerordentlich ist der Schwärmzustand durch äußere Einflüsse bedingt, so durch den Zutritt des Sauerstoffs, durch die Zusammensetzung des Nährbodens und durch die Temperaturverhältnisse. Ich verweise nur auf die Arbeiten von Ritter (1899) und Mirosnesco (1899). Demnach ist es nun selbstverständlich, daß das Fehlen eines Schwärmzustandes, auch bei fortgesetzter Beobachtung einer Kultur, nicht aussagt, daß der Species die Schwärmfähigkeit fehlt. Die Angaben, die über die Schwärmfähigkeit verschiedener Bakterien-species in der Litteratur vorliegen, sind von diesem Standpunkt aus zu beurteilen, beispielsweise zeigte eine Kultur des *Bact. Petroselini* auf Agar + 1 Proz. Dextrose normale lebhaft Schwärmer, während der Autor der Species Burchard (1898. p. 39) keine Schwärmer beobachtet hatte. Wie aus meinen Untersuchungen sich ergeben hat, hatten die ersten Kulturen von *Bacillus cohaerens* und alle Kulturen von *Bacillus mycoides* und *Bacillus ruminatus*, welche sich auf Agar + 1 Proz. Dextrose bei 28° entwickelt hatten, zu keinen Zeiten einen Schwärmzustand aufzuweisen; höchstens konnte man bei genauer Beobachtung eine langsame, wackelnde oder schwach drehende Bewegung der Stäbchen erkennen. Bei *Bac. ruminatus* fand ich jedoch später im Kondenswasser von Kulturen, welche 12 Stunden bei Zimmertemperatur gestanden hatte, wenige Stäbchen in langsamer, aber deutlicher Schwimmbewegung. In Uebereinstimmung hiermit habe ich bei *Bac. tumescens*, *Bac. Petasites* und *Bac. simplex* etc. beobachtet, daß, wenn man die jungen bei 28° auf Agar entwickelten Keimstäbchen bei Zimmertemperatur stehen ließ, nach 10—12 Stunden ein äußerst lebhafter Schwärmzustand vorhanden

war, welcher stets gleichmäßiger und normaler war, als nach weiterer Entwicklung bei 28°. *Bac. mycoides* jedoch zeigte auch nach weiterer Entwicklung bei Zimmertemperatur keinen Schwärmzustand, und auch die Versuche, *Bac. mycoides* bei höheren Temperaturen, z. B. bei 40° auf Agar zum Schwärmen zu bringen, blieben erfolglos. Trotzdem besaß der Pilz Geißeln. Wenn man nun ein Bakterium untersucht und einen Schwärmzustand nicht nachzuweisen vermag, so ist nach dem Vorhergesagten die Möglichkeit, daß man es doch mit einem begeißelten Bakterium zu thun hat, absolut nicht ausgeschlossen, und es sind zu den verschiedensten Zeiten der Entwicklung der Kulturen Geißelfärbungen vorzunehmen, auch wenn kein Schwärmzustand beobachtet wurde. Wenn in der Litteratur für eine Species die Angabe gemacht ist, daß sich Geißeln nicht nachweisen ließen, so ist damit noch nicht der Nachweis geliefert, daß das betreffende Bakterium keine Geißeln besitzt. Migula hat bei Bakterien mit deutlichen Bewegungserscheinungen keine Geißeln nachweisen können (System der Bakterien, Vorwort) und Mironesco (1899) hat für ein Bakterium, welches bei 38° gezüchtet unbeweglich war, keine Geißeln nachweisen können, während dasselbe Bakterium, bei 10 oder 23° entwickelt, Schwärmthätigkeit und Geißelfärbung lieferte.

Nach dem Gesagten ist es nicht leicht zu sagen, welcher Wert den Angaben über das Vorhandensein und Fehlen der Geißeln und der Bewegungsfähigkeit bei einer Species beizulegen ist. Man wird von Fall zu Fall darüber zu entscheiden haben. Es hängt der Wert der Angaben dieser Art für die Speciesdiagnose ganz wesentlich von der Sorgfalt ab, mit welcher bei der Prüfung auf Geißeln und Bewegungsfähigkeit der Species vorgegangen worden ist.

7. Ueber Glykogen- und Fettbildung.

Herr Prof. Meyer hatte nachgewiesen, daß in bestimmten Bakterien außer sich mit Jod blau färbenden Kohlehydraten auch Glykogen und Fett als Reservestoffe gespeichert werden. Zum Nachweis des Fettes benutzte er, nach dem Fixieren des Materials mit Formaldehyd, eine Sudan-Methylenblaudoppelfärbung oder auch an Stelle des Sudans Dimethylamidoazobenzol (s. Flora. 1899. Heft 5. p. 433); der Nachweis des Glykogens wurde mit Hilfe von Jod geführt (s. p. 441). Ich habe diese Reaktionen auf alle untersuchten Bakterien-species angewandt, und es hat sich dabei gezeigt, daß die Fett- und Glykogenbildung als sehr gute diagnostische Merkmale zu gebrauchen sind.

Bacillus Carotarium, *Bac. simplex*, *Bac. cohaerens*, *Bac. asterosporus* bildeten auf neutralem bis höchstens schwach alkalischem Agar mit 1 Proz. Dextrose, auf der Möhre, wie auch in den meisten angewandten Nährlösungen, *Bac. subtilis* und *Bac. subtilis* α vorzüglich in Heuabkochung Glykogen, während *Bac. Ellenbachensis*, *Bac. graveolens*, *Bac. mycoides*, *Bac. Petasites*, *Bac. ruminatus*, *Bac. tumescens* sowohl auf Agar mit Dextrose, wie auf der Möhre und auch in den Nährlösungen stets Fett bildeten. Es ist jedoch bei der Charakterisierung einer Bakterien-species darauf Rücksicht zu nehmen, daß

die Speicherung von diesen Reservestoffen nur bei guter Ernährung der Bakterien eintritt und besonders reichlich kurz vor der Sporenbildung stattfindet. Für diese Ernährungsfrage ist die Untersuchung von Lyons (1897) von Interesse, welcher unter anderem fand, daß von 3 Arten Kapselbacillen auf Nähragar bei einem Traubenzuckergehalt von 5 Proz. die Maximalmenge von Alkohol- und Aetherextraktivstoffen gebildet wird.

8. Ueber Größenmessungen an lebendem, schwach gefärbtem, getrocknetem, in Wasser liegendem, oder in Kanadabalsam eingebettetem Material (Fig. VII).

Die von mir angegebenen Messungen der Sporen und Stäbchen sind stets an lebendem Material, unter Zusatz von wenig Methyleneblaulösung 1:40 ausgeführt. In der Litteratur ist meistens dort, wo überhaupt Größenverhältnisse mitgeteilt sind, nicht angegeben, ob dieselben an frischem oder angetrocknetem, gefärbtem, in Wasser oder in Kanadabalsam liegendem Material bestimmt sind. Um vollständige Klarheit über die Differenzen zu erlangen, welche zwischen den Messungen an lebendem und angetrocknetem und gefärbtem Materiale bestehen können, habe ich mit den Stäbchen einer 16-stündigen Agarkolonie von *Bacillus graveolens* folgende Färbungen und Messungen ausgeführt:

- 1) Eine Geißelfärbung (Fig. A u. B); die Breite der Stäbchen ist = 1,9—2,5 μ ;
- 2) lebendes Material mit Methyleneblau 1:40 ganz schwach gefärbt (Fig. C a, b); die Breite der Stäbchen ist = 1,5 μ ;
- 3) an Deckgläschen angetrocknetes Material mit Fuchsin gefärbt, Deckgläschen in Wasser liegend (Fig. E a, b); die Breite der Stäbchen ist = 1,39 μ ;
- 4) an Deckgläschen angetrocknetes Material, Deckgläschen (Präparat No. 3) in Kanadabalsam liegend (Fig. D a, b, c); die Breite der Stäbchen ist = 1,11 μ .

Wie weit das Eintrocknen der Bakterien gehen kann, sehen wir weiter an den mit gleicher Vergrößerung gezeichneten Sporangien von *Bac. Carotarum* (Fig. Fa, b, c u. G); in Fig. Fa, b, c sehen wir eine Doppelfärbung (Trockenpräparat, Fuchsin-Methyleneblau) ausgeführt (Sporen rot, Plasma blau), Deckgläschen in Kanadabalsam liegend, während wir in Fig. G lebende, in Wasser liegende, ganz schwach mit Methyleneblau gefärbte Sporangien vor uns haben.

Die Sporangien in Fig. G sind = 1,11—1,2 μ , die in Fig. F = 0,55—0,7 μ breit.

Einige hierher gehörige Zahlen finden wir auch z. B. bei Gerstner (1894), welcher beispielsweise für *Bacillus diffrangens* (p. 165) angiebt: „Die Dicke beträgt durchschnittlich 0,8 μ , gefärbt und in Kanadabalsam eingeschlossen 0,33 μ .“

Aus dem Mitgeteilten geht hervor, daß die Größenangaben in der Litteratur nur dann brauchbar sind, wenn aus den Angaben

ersichtlich ist, an welchem Materiale die Messungen vorgenommen worden sind.

9. Ueber Säure- und Alkalibildung.

Wie vorausszusehen, zeigen die Resultate meiner Untersuchungen, daß für ein und dieselbe Species die unter den gleichen Bedingungen gebildeten Säure- und Alkalimengen variieren können. Beispielsweise erhielt ich für *Bacillus pumilus*, den ich von verschiedenen Nährböden isoliert hatte, folgende Resultate: I. Nach 6-wöchentlicher Entwicklung bei 28° in Nährlösung IV; 10 ccm = 8,5 ccm $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure. II. 1) Nach 4-wöchentlicher Entwicklung; 10 ccm = 6,6 ccm $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure. 2) Nach 6-wöchentlicher Entwicklung; 10 ccm = 2,8 ccm $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure. Es ist also auf die Resultate der quantitativen Bestimmung meistens weniger Wert zu legen; doch ist der Nachweis, daß überhaupt Säure oder Alkali von einem betreffenden Bakterium in einer Lösung von konstanter Zusammensetzung, bei bestimmter Temperatur, nach bestimmter Zeit und in Kölbchen von gleicher Größe gebildet wird, als gutes Speciesmerkmal zu gebrauchen.

Bei Ausführung der Alkali- und Säurebestimmungen habe ich folgendes beachtet:

1) Daß nach Möglichkeit Nährlösungen von konstanter Zusammensetzung benutzt wurden und zwar jedesmal 40–50 ccm. 2) Daß die Entwicklung der Bakterien in den Nährlösungen in Kölbchen ausgeführt wurde, welche ungefähr 9 cm hoch waren, einen Boden von 7,5 Durchmesser besaßen, spitz zuliefen, so daß die Oeffnung der Kölbchen ungefähr 2,5 cm im Durchmesser hatte. 3) Daß die Zeit angegeben wurde, also angegeben wurde, nach wie langer Entwicklung der Bakterien in den betreffenden Nährlösungen die Alkali- oder Säurebestimmungen ausgeführt wurden, ob z. B. nach 4 oder nach 6 Wochen langer Entwicklung eines Bakteriums. 4) Daß die Temperatur, bei welcher die Entwicklung stattgefunden hatte, angegeben wurde. 5) Daß die Nährlösungen stets mit 15–20 Stunden altem Stäbchenmaterial von Agar geimpft wurden. Die titrimetrischen Bestimmungen des Alkali habe ich mit $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure, die der Säure mit $\frac{1}{10}$ Normalkalilauge ausgeführt. Als Indikatoren benutzte ich eine alkoholische Rosolsäurelösung 1 : 100 und eine alkoholische Dimethylamidoazobenzollösung 1 : 100.

Von den bei der Ausführung der Alkalibildung gefundenen Resultaten ist vielleicht folgendes noch hervorzuheben: Ich hatte zu gleicher Zeit zwei von verschiedenem Substrat isolierte Kulturen von *Bacillus Ellenbachensis* und eine Kultur von *Bacillus mycoides* angesetzt. Die Wachstumsintensität der Bakterien in den Nährlösungen war nach gleicher Zeit die folgende: *Bac. Ellenbachensis* I = 4, *Bac. Ellenbachensis* III = 2–3, *Bac. mycoides* = 3. Als ich diese verschieden stark entwickelten Kulturen auf den Gehalt an Alkali untersuchte, ergab sich die Thatsache, daß sie alle eine fast gleiche Menge Säure zur Neutralisation gebrauchten. Es ist möglich, daß bei diesen 3 Species ein gleicher Prozentgehalt der Lösung an gebildetem Alkali zur

Sistierung des Wachstums führt, doch kann das auffallende Resultat auch auf Zufall beruhen.

10. Diastasebildung.

Um nachzuweisen, ob von einem Bakterium in einer bestimmten Nährlösung Diastase gebildet wird, verfuhr ich nach Vorschlag von Herrn Prof. Meyer folgendermaßen: In 2 Reagenzgläser brachte ich ca. je 8 ccm der betreffenden Lösung, in welcher eine Bakterien-species sich ungefähr 4 Wochen bei 28° entwickelt hatte. Eine dieser beiden Lösungen kochte ich auf, um die eventuell vorhandene Diastase zu zerstören. Darauf fügte ich beiden Lösungen je einige Tropfen Chloroform, in späteren Untersuchungen Toluol, da letzteres das Ferment weniger schwächt, zu, goß hierauf in jedes Reagenzgläschen ca. 4 ccm einer sterilen Stärkelösung, welche 0,25 g Stärke in 500 g Wasser enthielt und schüttelte die Lösungen gut durch. Nach 24 Stunden oder auch später setzte ich tropfenweise Jodjodkaliumlösung (Jod 1,0, Jodkalium 1,0, Wasser 400,0) fortgesetzt, in gleicher Weise zu jedem der beiden Gläschen hinzu, um zu beobachten, ob bei geeignetem Jodzusatz in der nicht abgekochten Lösung eine schwächere Blaufärbung als in der abgekochten Lösung auftrat. Bei den Untersuchungen der Bakterien-species auf Diastasebildung zeigte es sich, daß diejenigen Species, welche in bestimmten Nährlösungen einmal Diastase erzeugt hatten, unter allen Umständen in derselben Lösung wieder Diastase bildeten. Die Diastasebildung ist daher, wenn sie in der gleichen Nährlösung von konstanter Zusammensetzung beobachtet wird, ein gutes Merkmal für die Species.

III. Die von mir auf Veranlassung des Herrn Prof. Meyer bei der Einordnung der in der Litteratur beschriebenen Bakterien-species unter die in dieser Arbeit genauer beschriebenen Arten befolgte Methode.

Die in der Litteratur vorkommenden Beschreibungen der hier in Betracht kommenden Bakterien-species sind ziemlich vollständig von Migula (1900) zusammengestellt.

Leider ist es nicht für alle Species möglich, der kritischen Betrachtung der Speciesdiagnose die von Migula gegebene Beschreibung direkt zu Grunde zu legen, da Migula ja selbst im Vorworte angiebt, daß die von ihm eingeforderten 600 Originalkulturen fast alle nicht mit den Originalbeschreibungen übereinstimmen. Migula hat aber trotzdem nach diesen nicht stimmenden Originalkulturen seine Beschreibung, wie er sagt, „ergänzt und berichtigt“. Es geht aus diesem ohne weiteres hervor, daß manche dieser Beschreibungen von Migula eine Mischbeschreibung sein kann, da ja die Eigenschaften zweier Species die Beschreibung für eine geliefert haben können. Ferner ist zu berücksichtigen, daß die Einreihung einer Species unter eine Migula'sche Gattung in seinem Buche durchaus nicht sagt, daß Migula die Begeißelung selbst untersucht hat, z. B. sagt Migula bei *Bacillus mycoides* „die Fäden zeigen eine geringe Eigenbewegung“; und es stellt

Migula Bac. mycoides ohne weiteres zur Gattung „*Bacillus*“, erwähnt dabei über die Geißeln: „ebensowenig ist die Begeißelung bekannt“. Deshalb ist auch diese Zuthat *Migula's* nicht ohne weiteres für unsere Zwecke zu benutzen.

Ich habe daher alle für mich wichtige, von *Migula* angeführte Litteratur nochmals durchgesehen, um die Angaben der Begründer der Species, mit denen, welche *Migula* macht, zu vergleichen. Die meisten der für uns in Betracht kommenden Beschreibungen sind derart, daß sich danach ein Bakterium nicht bestimmen läßt, denn die darin mitgeteilten Charaktere sind meist alle ganz zweifelhafter Art. Als Beispiel mag die folgende Beschreibung von: *Bacillus Hessii* (*Migula*. p. 585) dienen:

„Großes, sehr bewegliches Stäbchen von $1,2 \mu$ Breite und $3-5 \mu$ Länge, bildet Sporen. Gelatine wird verflüssigt, auf Kartoffeln entsteht ein dunkelweißes, allmählich braun werdendes Lager. Milch und Bouillon werden schleimig und fadenziehend. Die fadenziehende Beschaffenheit der Milch verliert sich aber beim Eintritt der Säurebildung schon bei 2-tägigem Aufenthalt bei 35°C .“

Aus der Angabe über die Breite und Dicke der Stäbchen ist es nicht ersichtlich, ob dieselben lebend, in Wasser liegend; oder gefärbt und in Kanadabalsam liegend gemessen sind. Die Beschreibung der Kartoffelkultur, welche nach den in der Einleitung gemachten Erörterungen wenig Wert besitzt, wird durch den Mangel an Zeitangaben und dadurch, daß bei Ausführung der Kultur nicht von abgekochtem Sporenmaterial ausgegangen worden ist, fast unbrauchbar. Das Verflüssigungsvermögen von Gelatine und die Schleimbildung, welche danach überhaupt nur noch für die Diagnose von *B. Hessii* in Betracht kommen, kommen so vielen Bakterien-species zu, daß beide zusammen niemals zur Charakterisierung einer Species genügen können.

So finden wir beispielsweise in der Beschreibung von *Bac. mesenterioides* Deetjen (1893): Große Stäbchen mit Eigenbewegung, Gelatineverflüssigung, Schleimbildung und gelblich-bräunliche Kartoffelkultur, und es könnte demnach also auch *Bac. Hessii* = *Bac. mesenterioides* sein.

Alle so sehr unvollständigen Beschreibungen haben nun selbstverständlich nicht die Berechtigung, in der Wissenschaft weiter berücksichtigt zu werden, und es wird deshalb zweckmäßig sein, dieselben in irgend einer Weise auszuschalten. Ich habe nun zum Zwecke dieser Ausschaltung alle Species mit Beschreibungen, welche sich den von mir gegebenen Speciesdiagnosen, nach den ausgesprochenen Prinzipien der Wertigkeit der verschiedenen Merkmale, wenn auch mit einigem Zwang, fügen, unter die betreffenden Species eingeordnet und habe bei diesen Species den Vermerk „möglicherweise synonym“ gemacht. Mit dieser Einreihung unter eine meiner Species ist also nicht gesagt, daß das Bakterium, welches dem Autor der eingereichten Species vorgelegen hat, in der That meiner Species gleich gewesen sei, aber die Möglichkeit liegt vor, und eine Entscheidung wird nie zu treffen sein, wenn man nicht die Originalkulturen der Autoren zur Verfügung hat.

Wenn man die Erfahrung von Migula berücksichtigt: „daß nur ein kleiner Teil der 600 Kulturen, welche Migula nach und nach von den Autoren bekommen und untersucht hatte, den Originalbeschreibungen wirklich entsprach“, so würde selbst der Besitz der Originalkulturen nicht immer zur Entscheidung ausreichen.

Solche Species, die an sich durch viel zu wenige, eventuell zu ungewisse Merkmale charakterisiert sind, Merkmale, welche jedoch einer meiner Species zukommen, habe ich unter meine Species eingereiht und mit „o“ bezeichnet.

Ich denke, daß das auf Veranlassung von Herrn Prof. Meyer von mir eingeschlagene Verfahren Billigung und Nachahmung finden wird.

Von anderen Autoren aufgestellte Species, welche durch die Arbeit vorläufig aufgehoben werden, sind die folgenden: *Bacillus albolactus*, *B. Armoraciae*, *B. bipolaris*, *B. brassicae*, *B. brevis*, *B. cereus*, *B. cursor*, *B. cylindrosporus*, *B. filiformis*, *B. goniosporus*, *B. granulosus*, *B. idosus*, *B. implexus*, *B. intricatus*, *B. lacteus*, *B. leptodermis*, *B. limosus*, *B. loxosporus*, *B. loxosus*, *B. lutulentus*, *B. mesentericus* Flügge, *B. mesentericus vulgatus*, *B. natans*, *B. radicosus* (Wurzelbacillus), *B. ramosus*, *B. ramosus liquefaciens*, *B. stoloniferus*, *B. subanaërobicus*, *B. thalassophilus*, *B. vacuolosus*, *B. vermicularis*, *B. virgatus*, *Bacterium casei*, *B. perittomaticum*, *B. Petroselinum*, *B. turgescens*.

Im Laufe der Untersuchungen hat es sich herausgestellt, daß einige einander sehr ähnliche Species vorkommen, deren kleine Unterschiede unter allen verschiedenen Verhältnissen, in welche sie gebracht wurden, erhalten blieben, wie z. B. *Bacillus graveolens* und *Bacillus graveolens a*. Es schien Herrn Prof. Meyer vorläufig nicht zweckmäßig, für solche zwei Formen zwei verschiedene Namen zu bilden. Es ist vielmehr die zuerst gefundene Species allein mit einem Namen versehen worden, dem wir für die andere Species nur den Buchstaben *a* hinzufügen. Sollte es sich später herausstellen, daß diese Species unter allen Umständen konstant bleiben, so kann man die mit „a“ bezeichneten noch mit einem besonderen Namen belegen. Es ist ja von vornherein nicht unwahrscheinlich, daß es möglich wäre, *Bac. graveolens a* z. B. durch längere, zweckentsprechende Kultur in *Bac. graveolens* überzuführen. Habe ich doch bei *Bac. subtilis a* gesehen, daß es lange Zeit dauert, bis diese Form in die des *Bacillus subtilis* übergegangen ist. Gelang es mir dagegen eine, einer zuerst gefundenen Form, z. B. *Bac. graveolens*, ähnliche Form, z. B. *Bac. graveolens a* aufzufinden, welche sich durch zweckmäßige Kultur in die erste Form überführen ließ, so ist diese abweichende Form als Varietät aufgefaßt und mit dem Buchstaben *a* versehen worden.

(Fortsetzung folgt.)

Referate.

Lindner, P., Gärversuche mit verschiedenen Hefen- und Zuckerarten. (Wochenschr. f. Brauerei. 1900. No. 49—51.)

Bei den niederen Pilzen muß man die Unterschiede herholen, wo man sie bekommen kann; das gilt besonders für die Hefen, die durch ihre morphologischen Merkmale so häufig nur geringe Anhaltspunkte zur Artbestimmung abgeben. Es ist bekannt, daß die verschiedenen Hefenarten sich in ihrem Gärungsvermögen den Zuckerarten gegenüber nicht gleich verhalten. Es war also anzunehmen, daß eine umfassende Untersuchung über die Gärfähigkeit besonders wertvolle Resultate ergeben würde. Diese Annahme hat sich bestätigt und die überaus mühsamen, die Zahl 3000 übersteigenden Versuche des Verf.'s sind von Erfolg gekrönt worden.

Um das Resultat kurz vorwegzunehmen, so ergab sich, daß jede Hefenart sich charakteristisch gegenüber den verschiedenen Zuckerarten verhält, daß aber Gruppen von verwandten Arten ein ähnliches Verhalten zeigen.

Eine Anzahl von bekannteren Arten wurde in ihrem Verhalten gegen 20 Zuckerarten geprüft, worüber die erste Tabelle Auskunft giebt. Ueber die Prüfungsmethode, die sehr einfach ist und für die nur hohlgeschliffene Objektträger erforderlich sind, hat Verf. bereits früher in der Wochenschr. f. Brauerei. 1900. p. 336 berichtet. Es ergab sich, daß Arabinose, Xylose, Rhamnose, l-Sorbose, unechte Tagatose überhaupt nicht zersetzt werden, daß Inulin, Dextrin, Trehalose, α -Glukoheptose, Maltose, Melibiose, Milchzucker, α - und β -Methylglukosid nur in vereinzelt Fällen angegriffen werden und endlich, daß Glukose, d-Mannose, d-Galaktose, Fruktose, Rohrucker und Raffinose von den allermeisten vergoren werden.

Diesen Zuckerarten gegenüber zeigen die einzelnen Hefengruppen ein bestimmtes Verhalten. So vergären z. B. die Spalthefen (*Schizosaccharomyces*) Glukose, Fruktose, Maltose, Raffinose und α -Methylglukosid, nicht angegriffen wird Arabinose, Rhamnose, Sorbose, Trehalose, α -Glukoheptose, Milchzucker, Melibiose, Tagatose und β -Methylglukosid. Dabei unterscheiden sich dann die 3 untersuchten Arten durch geringfügige Unterschiede. Ähnliche Gruppen sind die Milchhefen, Hefen von Baumschleimflüssen, Hefen von konzentrierten Zuckerlösungen etc.

Einige besonders wichtige Hefengruppen hat Verf. in sehr vielen Arten in Bezug auf ihr Verhalten gegenüber einer kleineren Zahl von Zuckerproben studiert. Die Tabellen zeigen das Charakteristische der einzelnen Gruppen, doch kann hier nicht weiter darauf eingegangen werden. Studiert wurden die Gruppen des *Normalus*, die Kahlhefen, Weinhefen, wilden Hefen, Brennerei- und Preßhefen, ober- und untergärrigen Hefen und *Torula*-Hefen.

Wenn auch mit diesen Versuchen die Fragestellung des Verf.'s, ob das Verhalten der Hefen verschiedenen Zuckerarten gegenüber brauchbare Merkmale giebt, erschöpft ist, so knüpft sich doch sofort die Frage daran, ob denn die Hefen unter jeder äußeren Bedingung und in jedem Wachstumsstadium das gleiche Verhalten zeigen. Das bedarf noch sorgfältiger Prüfung.

Lindau (Berlin).

Sydow, H. und Sydow, P., Zur Pilzflora Tyrols. (Oesterreich. Botan. Zeitschr. 1901. p. 11.)

Die hier behandelten Pilze sind in der Gegend von Bozen und an der Brennerbahn gesammelt worden; die meisten gehören zu den Uredineen. Die Sammlung zeigt deutlich, wie viel noch in den Alpen zu arbeiten ist, ehe von einer einigermaßen erschöpfenden Kenntnis der Pilzflora gesprochen werden kann.

Ustilago Ischaemi wird zu *Cintractia* gestellt. *Uromyces caryophyllinus* wird auf den neuen Nährpflanzen *Dianthus silvestris* und *Tunica Saxifraga* nachgewiesen. *Puccinia Huteri* n. sp. auf *Saxifraga mutata*. Unter dem Namen *P. Lactucarum* werden die auf *Lactuca* vorkommenden Formen von *P. Chondrillae* auf *Chondrilla juncea* getrennt. *P. Mougeotii* Lagerh. ist neu für Tyrol. *P. oblongata* wurde auf der neuen Nährpflanze *Luzula nivea* beobachtet. *P. Passerinii* wurde auf *Thesium montanum* nachgewiesen. *P. septentrionalis* Juel war bisher nur aus Skandinavien bekannt; das *Aecidium* fand sich auf *Thalictrum alpinum*, die *Uredo* auf *Polygonum Bistorta*. *Phragmidium Potentillae* wurde auch auf *Potentilla impolita* und *minima* gefunden. *Aecidium Adenostylis* n. sp. auf *Adenostyles albifrons*. *Aec. Cardui* n. sp. auf *Carduus defloratus*, *Aec. Petasitidis* n. sp. auf *Phyteuma orbiculare*.

Außer den bereits genannten Arten wurden noch 3 neue auf *Crepis*-Arten nachgewiesen. Davon ausgehend, werden die *Crepis*-Uredineen einer näheren Bearbeitung unterzogen. Die einzelnen Arten werden mit vollständigen Beschreibungen versehen; Litteratur und Exsiccata werden vollständig citiert. Ueber diese bisher nur wenig bekannte Gruppe wird eine Uebersicht gegeben, die hier wiederholt werden mag.

Puccinia.

I. Aecidien, Uredo- und Teleutosporen vorhanden.

A. Aecidien gleichmäßig über die ganze Blattunterseite und meist über alle Blätter der Nährpflanze verbreitet (*Crepis tectorum* und *virens*): *P. Crepidis* Schroet.

B. Aecidien in einzelnen mehr weniger rundlichen Gruppen stehend.

a) Teleutosporen deutlich warzig (*C. alpestris*): *P. alpestris* n. sp.

b) Teleutosporen sehr feinwarzig oder punktiert.

- α) Teleutosporen größer, 30—48 μ lang.
 1) Auf *Crepis paludosa*: *P. major* Diet.
 2) Auf *C. biennis*: *P. praecox* Bub.
- β) Teleutosporen kleiner, 24—37 μ lang.
 1) Auf *C. praemorsa*: *P. Intybi* (Juel) Syd.
 2) Auf *C. aurea*: *P. Crepidis aureae* n. sp.
 3) Auf *C. pygmaea*: *P. Crepidis-pygmaeae* Gaill.
- II. Nur Uredo- und Teleutosporen vorhanden. Aecidien fehlend.
- A. Teleutosporen sehr kurz gestielt (*C. biennis*, *blattarioides*, *foetida*, *parviflora*, *setosa*, *taraxacifolia*, *vesicaria*): *P. crepidicola* n. sp.
- B. Teleutosporen länger gestielt (bis 20 μ).
 1) Auf *Crepis acuminata*: *P. Crepidis acuminatae* n. sp.
 2) Auf *C. Rueppellii*: *P. Aschersoniana* P. Henn.
 3) Auf *C. bursifolia*: *P. Scaliana* n. sp.

Aecidium.

- A. Zellen der Aecidium-Wand breit elliptisch oder eiförmig, in regulären Reihen liegend. Aecid. von *P. silvatica* Schroet.
- B. Zellen der Aecidium-Wand meist elliptisch oder lang deltoisch, nicht in genau regulären Reihen liegend.
 1) Auf *Crepis acuminata*: *Aec. crepidicolum* Ell. et Gaill.
 2) Auf *C. incarnata*: *Aec. Crepidis incarnatae* n. sp.
 3) Auf *C. montana*: *Aec. Crepidis montanae* n. sp.
 Lindau (Berlin).

Smith, G., The haustoria of the Erysipheae. (Botan. Gaz. Vol. XXIX. 1900. p. 153 u. f.)

Des Verf.'s Arbeit bringt zahlreiche Beiträge zur Kenntnis parasitischer Pilze und ihrer Wirkung auf die von ihnen infizierten Pflanzen.

Am eingehendsten wird *Erysiphe communis* behandelt. Als erste sichtbare Wirkung des Pilzes beschreibt Verf. die Bräunung der Membranstelle, an welcher die Pilzhyphe die Epidermis der Nährpflanze berührt. Die Außenwand der Epidermiszelle verdickt sich hiernach und bildet einen centripetal einspringenden Membrankegel, den der hineinwachsende, äußerst englumige „Stiel“ des Haustoriums durchsetzen muß. Nach seiner Ausbildung im Lumen der Zelle zeigt sich das Haustorium von einer „Scheide“ umgeben, die aus der Plasmahaut der Wirtszelle und aus umgewandelter Cellulose besteht. Jedes Haustorium enthält einen Zellkern. Der Kern der Wirtszelle wird mehr oder minder desorganisiert. Die Haustorien von *Uncinula salicis* sind nur in den subepidermalen Zellen umscheidet. Die in den Epidermiszellen liegenden Haustorien sind scheidenlos, weil nach Verf. die lebhafteste, von den *Uncinula*-Hyphen ausgehende Fermentwirkung die Bildung dauerhafter Scheiden verhindert. Bei den ins Mesophyll eindringenden Hyphen scheint dagegen die Fermentwirkung

bereits hinreichend abgeschwächt zu sein. Auffällig ist, daß die das Lumen der Epidermiszellen durchquerenden Hyphenteile oft gänzlich von Celluloseröhren eingekapselt sind. *Phyllactinia* erinnert hinsichtlich der Haustorienbildung an *Erysiphe*. Die auf *Xanthoxylum americanum* auftretende Species bildet im Schwammparenchym der Blätter zahlreiche plasmalose Haustorien.
Küster (Halle a. S.).

Smith, R. E., *Botrytis and Sclerotinia: their relation to certain plant diseases and to each other.* (Botanical Gazette. Vol. XXIX. 1900. p. 369.)

Die in Massachusetts und anderen Staaten Nordamerikas wohlbekannte „drop“-Krankheit der Salatpflanzen ist als *Botrytis*-Krankheit von *Humphrey* bereits eingehend beschrieben worden (The rotting of lettuce. Rept. Mass. State Exp. Sta. Vol. IX. 1892). Ueber den Krankheitserreger konnte Verf. folgendes ermitteln:

Obschon in allen, dem Verf. bekannten Fällen die Krankheitssymptome stets dieselben waren, sind die Krankheitserreger nicht untereinander gleich, vielmehr gehören sie einer von 3 verschiedenen Formen an. Die erste wird gekennzeichnet durch Bildung der bekannten *Botrytis*-Conidien, eine zweite durch das Auftreten der *Peziza*apothecien, die dritte entwickelt weder diese noch jene. Sklerotien werden von allen gebildet, allerdings ist die Bildungsweise und ihre Größe verschieden. In den allermeisten Fällen ist ein Pilz der drittnannten Form als Krankheitserreger wirksam.

Die 3 beschriebenen Formen gehören 2 verschiedenen Arten an: Der Conidien-bildenden *Botrytis vulgaris* und der Apothecien-tragenden *Sclerotinia Libertiana*. Die Hauptrolle als Erreger der drop-Krankheit spielt eine degenerierte Form der letzteren, die ihre Fähigkeit Sporen zu bilden verloren hat und vorwiegend durch üppiges saprophytisches Wachstum auf dem Boden sich verbreitet. Ihre Sklerotien bildet sie teils auf diesem, teils auf den von ihr befallenen Pflanzen. *Botrytis vulgaris* ist unter normalen Umständen nicht imstande, gut vegetierende Pflanzen zu infizieren, siedelt sich aber als Saprophyt leicht dort an, wo *Sclerotinia Libertiana* in der erwähnten sporenlosen Form bereits als primärer Krankheitserreger wirkt.

Verf. schildert des weiteren die bereits bekannten, durch *Botrytis* und *Sclerotinia* oder durch einen von beiden Pilzen erzeugten Krankheiten. Als neue *Botrytis*-Krankheiten schildert Verf. die von ihm an Zweigen von *Tilia parvifolia* und an Rosentriebspitzen in München beobachteten Erscheinungen.

Küster (Halle a. S.).

Beuter, E., In Dänemark im Jahre 1898 beobachtete Krankheitserscheinungen. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1900. p. 293.)

Verf. giebt einen Auszug aus der von E. Rostrup besorgten ausführlichen Darstellung. Daraus sei hervorgehoben, daß im Be-

obachtungsjahre Brand- und Rostpilze sehr geringen Schaden auf den Getreidearten verursacht haben. *Laestadia microspora* wird zum ersten Male als Getreideschädling beobachtet.

Der Klee wurde von *Sclerotinia Trifoliorum* angegriffen. Auf Weißklee fand sich der neue Pilz *Sphaerulina Trifolii* Rostr.

Plasmodiophora Brassicae trat schädigend auf Turnips und Kohlrüben auf. Auf der Runkelrübe wurde außer den bekannten Schädlingen noch *Ramularia Betae* Rostr. n. sp. beobachtet.

Zwei Weizenschädigungen müssen wahrscheinlich auf Insekten zurückgeführt werden. Durch Insekten wurde überhaupt eine ganze Anzahl von Schäden auf Kulturpflanzen verursacht.

Lindau (Berlin).

Reuter, E., In Norwegen im Jahre 1898 aufgetretene Pflanzenkrankheiten. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1900. p. 343.)

Nach dem Bericht von Schøyen traten 1898 in Norwegen eine Reihe von Pflanzenkrankheiten auf, die zu mannigfachen Klagen Veranlassung gaben.

Hafer litt unter *Ustilago Kolleri*, Gerste unter *Cladosporium herbarum*. Beim Hafer wurden mehrfach taube, weiße Ähren beobachtet; den Grund für diese Mißbildung gaben diesmal ungünstige Witterungsverhältnisse, während sonst auch Angriffe von Tieren oder Pilzen etwas Aehnliches erzeugen. Auf Garten- und Feldgemüsen wurden nur unwesentliche Schädigungen beobachtet. Die Obstbäume litten namentlich durch Raupen und Läuse. *Fusicladium dendriticum* und *Monilia fructigena* waren sehr häufig. Die Krankheiten des Beerenobstes, der Forstgewächse und Zierpflanzen bieten kein besonderes Interesse.

Lindau (Berlin).

Noack, F., Pilzkrankheiten der Orangenbäume in Brasilien. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1900. p. 321. Mit Taf. VI.)

Verf. beschreibt eine Anzahl von Krankheiten der Orangenbäume, die er bei seinem Aufenthalt in Brasilien beobachtet hat.

Mycosphaerella Loeffgreni n. sp. und *Septoria Loeffgreni* n. sp. gehören höchst wahrscheinlich demselben Entwicklungskreise an. An Blättern, an jungen Zweigen und unreifen Früchten entstehen zartrote, scharf umschriebene Flecken, die später ledergelb und endlich weiß werden. In den Flecken sitzen die Perithezien und Pykniden. Im Bereich der Flecken sind die Parenchymzellen abgestorben, die Intercellularen sind mit Pilzfäden durchsetzt. Das gesunde Gewebe schützt sich gegen das Vordringen des Mycels dadurch, daß von den lebenden Zellen gummiartige, gelbe bis braune Massen in den Intercellularen ausgeschieden werden. Der Pilz wird dadurch auf seinen Raum beschränkt und erstickt. Die ausgeschiedenen Gummimassen bilden um den Flecken eine kontinuierliche Grenzschicht.

Eine Art Krebskrankheit erzeugt *Didymella Citri*. Als erstes Stadium der Krankheit zeigt sich eine kleine Pustel in der Rinde, die nach kurzer Zeit abgestoßen wird. Es entsteht dadurch eine seichte, das Holz nicht erreichende Grube, die hellere Farbe besitzt. Seitlich dieser Grube beginnt nun die Krankheit von neuem. Es lösen sich wieder Teile ab, die den Holzkörper bloßlegen und durch die Cambialthätigkeit nicht mehr überwallt werden können. Bei weitgehenderer Entblößung des Holzes stirbt der Baum. In frisch erkrankter Rinde entstehen die Pykniden, erst nach der Vertrocknung des ergriffenen Gewebes bilden sich Perithezien. Durch die Gummiasscheidung wird das Wachstum des Pilzes nicht aufgehalten, ebensowenig durch Wundkorkbildung.

Auf Orangenschildläusen wurde *Ophionectria coccicola* Ell. et Vogl. nachgewiesen. Dieser Pilz beschränkt sich nicht bloß auf die Abtötung der Tiere, sondern dringt auch, nachdem er kleine Stromata gebildet hat, in den Zweig ein und verursacht eine Gummosis. Die ersten Gummibildungen treten in den krystallführenden Geleitzellen zwischen Holz und Rinde auf; schon vor der Gummibildung zeigen die erkrankten Partien verquollene Zellwände, die sich durch Jodjodkalium schwach blau färben. Zur Ergänzung der Diagnose giebt Verf. an, daß die Sporen septiert sind und sich außerdem noch Conidien finden.

Colletotrichum gloeosporioides Penz. bildet an den dünnen Zweigen bandartige Flecken, die infolge der Vertrocknung der Rinde heller gefärbt sind und gegen das gesunde Gewebe durch einen braunen Wulst abgegrenzt werden. Auf diesen Flecken sowie auf solchen der Blätter finden sich nun die kleinen punktförmigen Fruchtkörper des Pilzes. Das Mycel wuchert zwischen den Zellen und nur in einem Falle wurde es in einer Collenchymzelle gefunden.

Gloeosporium Spegazzinii Sacc. macht Blattflecken, die nur wenig bräunlich verfärbt sind. Das Mycel durchdringt die Pallasenzellen und bringt sie zum Schrumpfen. Unter der Epidermis bilden sich an einzelnen Stellen dichte Mycelballen, die die erste Anlage der Fruchtkörper darstellen.

Zum Schluß beschreibt Verf. noch eine Grindkrankheit. Auf der Rinde finden sich Knötchen, die durch Korkwucherungen entstehen und schließlich zusammenfließen. In der äußeren Rindenschicht finden sich Mycelfäden, die niemals eine Fruktifikation zeigen.

Lindau (Berlin).

Zimmermann, A., Korte opmerkingen over eenige ziekten en plagen van koffie en bijcultures, waargenomen op eenige koffielanden in Oostjava. (Teysmannia. 1900. Deel 11. p. 437—446.)

Bezüglich der Krankheiten des Kaffees erwähnt Ref. zunächst, daß in seiner Anwesenheit auf einem Kaffeelande Ostjavas Versuche gemacht wurden, um die grüne Kaffeelaus, die auf Java in den letzten Jahren vielen Schaden angerichtet hat, durch Blausäure

zu bekämpfen. Dieselben haben sehr günstige Resultate geliefert. Bei jungen Pflanzen, die unter den Angriffen von *Lecanium viride* am meisten zu leiden haben, ist diese Methode auch im Großen ausführbar, ohne allzu große Kosten zu verursachen.

Die Nematodenkrankheit des Kaffees hat sich stellenweise stark ausgebreitet, auf anderen Stellen dagegen fast gar nicht, ohne daß es möglich wäre, eine Ursache für dieses verschiedenartige Verhalten anzugeben. Die bisher versuchten Bekämpfungsmethoden gaben keine befriedigenden Resultate.

In manchen Gegenden wurde durch Engerlinge und die Raupen von *Oreta extensa* viel Schaden angerichtet. Namentlich in 2- und 3-jährigen Kaffeepflanzen wurde ferner stellenweise in großer Menge ein bisher nicht beschriebener Ringbohrer beobachtet, dessen Larven in der Rinde ringförmige Gänge machen. Derselbe gehört zu der Rüsselkäfergattung *Arachnopus*. Von Blattminierern wurde *Gracillaria coffeifoliella* stellenweise in ganz ungeheueren Mengen beobachtet. Durch dieselbe wurde aber dennoch kein sehr erheblicher Schaden angerichtet.

Hemileia vastatrix ist dieses Jahr trotz des feuchten Wetters nur in einigen Gegenden in größerer Menge aufgetreten, auf vielen Plantagen aber besonders heftig auf den Saatbeeten. Hier ist jedenfalls eine Bekämpfung durch Bespritzung mit einem Insecticid dringend anzuraten. Außerdem konnte Ref. auf einigen Unternehmungen die bisher auf Java nicht beobachtete *Cercospora coffeifoliella* nachweisen. Zur Bekämpfung der unter dem Namen „djamur upas“ bekannten Krankheit wurden Versuche mit Bouillie bordelaise begonnen. Für eine auf den Saatbeeten beobachtete Krankheit, bei der ein plötzliches Abfallen der Cotyledonen stattfand, konnte die Ursache nicht festgestellt werden.

Ref. konnte sich schon vor längerer Zeit durch Infektionsversuche davon überzeugen, daß durch *Helopeltis* die jungen Triebe des Kakaos derartig beschädigt werden, daß sie zuerst braune Flecken erhalten und später gewöhnlich vollständig vertrocknen. Auf den Früchten des Kakaos werden durch die genannte Wanze ungefähr kreisförmige schwarze Flecken erzeugt. Neuerdings konnte Ref. nun nachweisen, daß *Helopeltis* nicht nur auf dem Kakao in Ostjava sehr verbreitet ist, sondern außerdem auch auf *Bixa orellana*, die in Kaffee- und Kakaoplantagen häufig als Windbrecher benutzt wird, in großen Mengen vorkommt. Durch künstliche Uebertragung konnte auch nachgewiesen werden, daß die auf *Bixa* gesammelten Tiere auf dem Kakao ebenfalls die oben beschriebenen Beschädigungen veranlassen.

Auf dem Zimmt wurde der zuerst von Raciborski in Buitenzorg beobachtete und unter dem Namen *Aecidium Cinnamomi* beschriebene Pilz auch in Ostjava nachgewiesen.

Eriodendron anfractuosum wurde stellenweise durch 2 verschiedene Bohrer stark beschädigt. Der erstere derselben, ein Bockkäfer, findet sich an der Basis des Stammes, während der andere, ein Rüsselkäfer, sich in den jungen Trieben aufhält.

A. Zimmermann (Buitenzorg).

Beh, Forstschädliche Insekten im Nordwesten der Vereinigten Staaten von Nordamerika. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1900. p. 157.)

Nach einer größeren Arbeit von Hopkins bespricht Verf. die im Nordwesten der Vereinigten Staaten von Nordamerika vorkommenden Insekten, die den Forsten schädlich sind. Die Wälder bestehen fast ausschließlich aus Nadelhölzern. Die wichtigsten Forstschädlinge gehören den Gattungen *Dendroctonus*, *Scolytus*, *Tomicus* und *Hylesinus* an. Die genannten Arten treten in Europa nicht auf. Im ganzen sind 60 Arten beobachtet, die sich auf 20 Gattungen verteilen.

Begünstigt wird der Schaden durch forstliche Mißwirtschaft; absichtliches Verletzen der Bäume durch Schlag oder Feuer, Liegenlassen des faulen Holzes sind Dinge, welche den Insekten Angriffspunkte und Brutstätten gewähren. Nur durch rationellen Forstbetrieb läßt sich eine Herabminderung des Schadens erreichen.

Lindau (Berlin).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Albert, R., Einfacher Versuch zur Veranschaulichung der Zymasewirkung. (Ber. der deutsch. chem. Gesellsch. Bd. XXXIII. 1901. No. 19. p. 3775—3778.)

Durch Eintragen in Alkoholäther gelingt es, die Hefe zu töten, ohne ihre Gärwirkung aufzuheben. Hierdurch ist ein Verfahren gegeben, welches künftig gestattet, ohne Anwendung einer hydraulischen Presse, Zymase aus Hefe zu gewinnen. Gleichzeitig ist damit ein weiterer schwerwiegender Beweis für die Enzymnatur der Zymase erbracht.

Frisch aus der Brauerei bezogene Hefe wird, nachdem sie mehrmals gewaschen ist, durch Kolieren und Auspressen von anhaftendem Wasser möglichst befreit. 250 g dieser Masse werden nun durch ein Haarsieb hindurch in ein Gemenge von 3 l absolutem Alkohol und 1 l Aether eingetragen. Nach 4—5 Minuten entfernt man die Hauptmenge des Alkoholäthers von der sich rasch zu Boden setzenden Hefe durch Abpressen, den Rest durch Absaugen. Durch darauffolgendes Waschen mit ca. $\frac{1}{2}$ l Aether wird der noch anhaftende Alkohol völlig entfernt und der Rückstand dann sofort in dünner Schicht auf Filtrierpapier ausgebreitet. Nach Verlauf einer Stunde hat man auf diese Weise ca. 90 g eines gelblich-weißen Pulvers erhalten, in welchem sich, wie der Versuch ergibt, nicht eine einzige lebende Hefezelle mehr befindet. Suspiziert man auf solche Weise erhaltenes Hefepulver in der 5-fachen Menge einer wässrigen 20-proz. Rohrzuckerlösung, so tritt bei Zimmertemperatur nach einer Stunde, bei 38—40° dagegen schon nach ca. 30 Minuten Kohlendioxydentwicklung ein, welche rasch zunimmt und schließlich geradezu stürmisch verläuft. Mit solcher

getöteter Hefe wurden quantitative Gärkraftbestimmungen in der Weise ausgeführt, daß je 2 g Trockenhefe (Brauereiunterhefe) mit 2 resp. 4 g Rohrzucker und 10 ccm Wasser in Kölbchen mit Schwefelsäureverschluß angesetzt und die Mengen des entwickelten Kohlendioxyds durch Gewichtsverlust bestimmt wurden. Als Antisepticum diente ein Zusatz einiger Körnchen Thymol. Die Temperatur bei allen Bestimmungen betrug 22° C.

Die erhaltenen Zahlen zeigen eine auffallende Uebereinstimmung untereinander. Da man annehmen darf, daß hierbei die gesamte, in der Hefezelle im Augenblick ihrer Tötung vorhandene Zymase zur Wirkung kommt, so geht daraus hervor, daß der Enzymvorrat der Hefe in demjenigen Stadium, in dem sie sich befinden, wenn sie aus der Brauerei bezogen wird, stets nahezu gleich groß ist. Die Schlußzahlen, welche bei 4 g Zuckerzusatz erhalten wurden, sind höher und geben den vollen Wirkungswert der Zymase an. Bei den Bestimmungen mit 2 g Zuckerzusatz ist anzunehmen, daß der Zucker bis auf sehr geringe Mengen, welche sich schließlich in der allzu verdünnten Lösung der Enzymwirkung entziehen, vergoren wurde. Vergleicht man diese Zahlen ferner mit denjenigen, welche man bei Gärkraftbestimmungen mit Hefepreßsaft erhält, der aus derselben Hefe in frischem Zustande gefunden wurde, so sind sie sehr viel höher als jene. Durch die Preßsaftgewinnung wird nur etwa der 5. Teil der in der Hefe befindlichen Zymase ausgezogen.

Der Gärungsvorgang vollzieht sich auch bei derartig getöteter Hefe innerhalb der Zelle, nachdem die Zuckerlösung durch die noch intakte Zellwand hineindiffundiert ist. Eine gärkräftige wässerige Lösung kann daher durch Extrahieren mit Wasser oder verdünnter Glycerinlösung ebensowenig erhalten werden, wie aus frischer lebender Hefe. Erst nach vorausgegangener Zerstörung der Zellwand und in diesem Falle wahrscheinlich auch noch des geronnenen Protoplasmaschlauches läßt sich die Zymase in Lösung bringen, jedoch mit der Vereinfachung, daß man hierbei die Anwendung der hydraulischen Presse umgehen kann.

Verf. giebt zum Schluß die Darstellungsweise einer völlig klaren Lösung an, welche sich namentlich zu Demonstrationszwecken eignet.

H. Will (München).

Schimper, Anleitung zur mikroskopischen Untersuchung der vegetabilischen Nahrungs- und Genußmittel. 2. umgearbeitete Auflage. Jena (G. Fischer) 1900.

Diese neue Auflage zeichnet sich vor allem aus durch eine neue übersichtliche Anordnung des Stoffes. Zuerst bespricht Verf. die Mahlprodukte und Stärkearten, sodann den Kaffee und seine Surrogate, hierauf die Kakaopräparate (Kakaopulver, Chokolade), ferner den Thee, den Tabak, den Pfeffer, den Piment oder Nelkenpfeffer, die Gewürznelken, den Paprika, den Senf, den Safran, den Zimmt, die Vanille, die Kardamomen, die Muskatnuß und Mais, den Ingwer und Curcuma, das Agar-Agar in Fruchtgelée und den Honig. Das Werk enthält zahlreiche neue Abbildungen, die klar

und mustergiltig ausgeführt sind, wodurch es dem Anfänger zur Anleitung dienen kann. Daneben kann es aber auch als ein sehr empfehlenswertes Nachschlagebuch für den Nahrungsmittelchemiker aufgefaßt werden. Für diesen letzteren Zweck dürften vielleicht noch hier und da detailliertere Ausführungen erwünscht sein. So genügt es zur allgemeinen Orientierung z. B. nicht, wenn bei den Tabaksblättern die Haarformen genau beschrieben und abgebildet sind, sondern es wären zu den möglichen Verfälschungen mit anderen Blättern die wichtigsten Formen der Trichomgebilde dieser, so der Runkelrüben, des Kohls, der Kartoffel etc. selbst anzuführen.

Thomann (Bern).

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Klimmer, Ziele und Wege der Milchhygiene. (Archiv für wissenschaftl. und prakt. Tierheilkunde. 1900. Heft 6.)

In vorliegender Arbeit beleuchtet Verf. die Gefahren, welche aus dem Milchgenuß den Menschen drohen können, eine gesundheitsschädigende Wirkung tritt ein, wenn die Milch pathogene Mikroorganismen oder chemische Gifte enthält. Dieselben können schon im Euter oder erst nach dem Ermelken der Milch von außen beigemischt werden.

Die Absonderung fehlerhafter, durch ihren Genuß die menschliche Gesundheit schädigender Milch kann veranlaßt sein entweder durch eine Erkrankung der Milchtiere an Infektionskrankheiten, welche als solche auf Menschen übertragbar sind (Tuberkulose, Aphthenseuche, Milzbrand, Tollwut) oder durch Erkrankung der Kühe an Infektionskrankheiten, welche als solche auf Menschen zwar nicht übertragbar sind, die aber zu einer Bakterienbeimengung und einer Aenderung der chemischen Zusammensetzung der Milch führen (Lungenseuche, Eutererkrankungen, fieberhafte Leiden im allgemeinen und Krankheiten der Verdauungsapparate). Ferner kann die Aufnahme von chemischen Giften seitens der Kühe und Ausscheidung der Gifte mit der Milch Veranlassung zur Absonderung gesundheitsschädigender Milch geben.

Die ermolkene Milch kann schädigende oder ekeleregende Beschaffenheit annehmen durch Beimengung von saprophytischen oder pathogenen Bakterien, ferner durch nachträgliches Hinzutreten unbelebter Stoffe (Milchschmutz), chemischer Gifte und Riechstoffe.

Es soll nun die erste Aufgabe der Behörden sein, bei der Milchkontrolle die angeführten Gefahren im Auge zu behalten und solche möglichst abzulenken. Dies kann nach Verf.'s Ansicht nur erreicht werden durch Ernennung von tierärztlichen Inspektoren, welchen die Untersuchung der Milchtiere, sowie die Beaufsichtigung über die Behandlung und Aufbewahrung der Milch obzuliegen

hätte. Es haben auch einige größere Privatmolkereien solche Inspektoren angestellt und bewiesen, daß sich diese Einrichtung glänzend bewährt hat. Solche Privatunternehmungen genügen aber nicht, sondern sollten von den Behörden eingerichtet werden, um in erster Linie eine Verallgemeinerung herbeizuführen. Dies würde dann zu einer vom Staate gesetzlich angeordneten, obligatorischen Milch- und Milchviehbeschau führen. Gleichzeitig sollte die Anzeigepflicht aller Euter-, sowie inneren Krankheiten der Milchtiere verlangt werden. Die Milch der erkrankten Tiere ist während der Dauer der Krankheit vom Verkehr als menschliches Nahrungsmittel ausgeschlossen. Eine Ausnahme hiervon ist nur dann zulässig, wenn der beamtete Tierarzt erklärt, daß die Milch in dem betreffenden Falle eine ekelerregende oder gesundheitsschädigende Beschaffenheit nicht besitzt. Verf. führt eine größere Anzahl von Bestimmungen an, auf Grund welcher es möglich wäre, gesundheitsschädliche Milch vom Verkauf auszuschließen. Daß dieselben streng und gewissenhaft befolgt werden, darauf haben die tierärztlichen Inspektoren zu achten, ungefähr alle 14 Tage sollen die Gehöfte von denselben inspiziert werden. Aehnlich der obligatorischen Fleischbeschau soll eine Milchviehbeschau angestrebt werden, und es ist dafür Sorge zu tragen, daß die Tierärzte nicht nur imstande sind, auf Grund klinischer Symptome Krankheiten der Milchtiere festzustellen, sondern daß sie auch die gesamte Milchkunde in genügender Weise beherrschen.

Thomann (Bern).

Taschenberg, E. L., Schutz der Obstbäume gegen feindliche Tiere. 3. bedeutend vermehrte Auflage von Prof. Dr. **Otto Taschenberg**. Mit 75 in den Text gedruckten Abbildungen. Stuttgart (Eugen Ulmer) 1901.

Die neue Auflage oder besser Bearbeitung dieses von jeher geschätzten Buches wird gern begrüßt werden, denn sie kommt mittels durchaus zweckentsprechender, weil übersichtlicher, klarer und urteilsfähiger Belehrung dem Bestreben des Obstgärtners entgegen, durch Pflege seiner Bäume nach jeder Richtung hin deren Gedeihen und damit die Ernte zu steigern. Der Stoff ist in 106 Paragraphen oder Einzelkapitel eingeteilt, die wieder unter mehreren Hauptabschnitten singgemäß zusammenstehen. Die Einleitung beginnt mit der Bestimmung des Begriffes „schädliches Tier“ vom menschlich-egoistischen Standpunkte aus und will ein Tier dann pflanzenschädlich nennen, „wenn es eines unserer Kulturgewächse oder einzelne seiner Organe in der Weise beeinflusst, daß der mit dem Anbau desselben verbundene Zweck vereitelt oder in höherem oder geringerem Grade beeinträchtigt wird.“ Nach weiteren Ausführungen über die verschiedenen Arten und Grade der Pflanzenbeschädigung durch Tiere wird die hierbei als wichtigste in Betracht kommende Klasse der Insekten nach äußerer und innerer Organisation soweit besprochen, daß ein Verständnis der später im Texte vorkommenden Begriffe und Kunstausdrücke ermöglicht wird. Für die systematischen Bezeichnungen sind die neuerdings

immer allgemeiner zur Annahme gelangenden ältesten Namen angewendet worden. Der erste Hauptteil beschäftigt sich mit dem Obstschutze gegen feindliche Tiere im allgemeinen und handelt unter vielem Anderen ausführlich von der Vermeidung bestimmter Anpflanzungen, dem Schutze der nützlichen Tiere und der Bekämpfung der schädlichen durch Aufsuchen an ihren Aufenthaltsorten, durch Bereitung künstlicher Hindernisse und Vertilgung nach vorangegangener künstlicher Anlockung. Dabei finden z. B. die Methoden und Vorkehrungen zum Einsammeln, Abklopfen, Abbrennen und Ausräuchern, die Leimringe, Fanggürtel, Obstmadenfallen und Fanglaternen ausführliche Besprechung und Würdigung. Ein weiterer Abschnitt ist den chemischen Vertilgungsmitteln gewidmet, wobei erprobte Rezepte und Anwendungsvorschriften nicht fehlen.

Im zweiten Hauptteile gilt als oberstes Einteilungsprinzip, wie schon in der früheren Ausgabe, die Zusammenstellung derjenigen Pflanzenteile, an welchen die Beschädigungen erfolgen, also Schutz der Wurzel, des Holzkörpers, der Blattoorgane nebst den Blüten, und der Früchte. Dabei hat es der Verf. mit Recht als zweckmäßig befunden, die Anordnung innerhalb dieser Abschnitte mehr nach der Uebereinstimmung in Lebensweise oder Bekämpfung als nach den verwandtschaftlichen Beziehungen vorzunehmen. Im einzelnen werden, einer kurzen Naturgeschichte des betreffenden Schädling, deren Beachtung sich auch dem bloßen Praktiker als nützlich und anregend erweisen wird, sich anschließend, die Vertilgungsmaßregeln besprochen und zwar nicht nur die erprobten und empfehlenswerten, sondern auch die zu vermeidenden. Den Beschluß macht eine Zusammenstellung der besprochenen Schädlinge nach ihren Nährpflanzen unter Zugrundelegung der schon erwähnten Einteilung. Hierdurch wird die Uebersicht und das Auffinden getrennter Gegenstände erleichtert. — Unter den in ausreichender Zahl beigegebenen Abbildungen reihen sich die neuen den vortrefflichen älteren würdig an.

Arnold Jacobi (Berlin).

Windisch, B., Ueber die Einwirkung des Kalkhydrates auf die Keimung. (Die landwirtschaftlichen Versuchsstationen. Bd. LIV. Heft 3 u. 4. p. 283—309.)

Da Kalkwasser und Kalkhydrataufschwemmungen bei der Bekämpfung von Pflanzenkrankheiten, soweit dabei ein Beizen von Samen in Betracht kommt, eine Rolle spielt, ist es interessant, daß Versuche über die Einwirkung des Kalkhydrates gemacht wurden. Dieselben wurden ausgeführt einerseits mit gewöhnlichem Kalkwasser (einer Lösung, die etwa 0,1724 Proz. Kalkhydrat enthält) und einer doppelten (0,0892) und 4-fachen (0,0478) Verdünnung, andererseits mit Aufschwemmungen von Kalkhydrat von verschiedenem Gehalt, von denen eine 5-proz. als stärkste zur Verwendung kam. Die Resultate dieser Versuche waren für die verschiedenen Samen recht verschiedene. Weizen litt weder in seiner Keimkraft, noch in seiner Keimungsenergie in irgend einer Weise;

alle anderen untersuchten Samen litten mehr oder weniger, und zwar war die Wirkung auf die übrigen Gramineensamen eine nur geringe, die Urticaceen wurden schon etwas mehr beeinflusst, sowohl Keimfähigkeit als Keimenergie wurden herabgesetzt; die Cruciferen waren selbst schon gegen verdünnte Lösungen empfindlich; am intensivsten aber wurden die Papilionaceen beeinflusst. Die einzelnen Arten verhielten sich dabei auch wieder verschieden; so wurde bei der Pferdebohne mit gewöhnlichem Kalkwasser nur die Keimung verzögert, während bei der Kichererbse die Keimfähigkeit völlig erlosch. Im allgemeinen kann man beobachten, daß zunächst die Keimenergie herabgesetzt wird und dann erst eine Reduktion der Keimfähigkeit eintritt. Dabei konnte beobachtet werden, daß die Verminderung der Keimenergie in keinem Verhältnisse zur Konzentration der Kalkhydratlösung resp. Aufschwemmung steht, was wohl daraus zu erklären ist, daß nur das gelöste Kalkhydrat wirksam ist. In Fällen, die scheinbar damit in Widerspruch stehen, ist wohl zu berücksichtigen, daß auch der feine Niederschlag von Kalkhydrat resp. Calciumkarbonat eine Wirkung haben kann, die wohl als mechanische zu denken wäre.

Appel (Charlottenburg).

Seelig, W., Erfolgreiche Bekämpfung des Traubenschimmels. (Proskauer Obstbau-Zeitung. Jahrg. V. No. 4.)

Schon bei der 1884er Oidium-Epidemie machte Verf. günstige Erfahrungen mit der Bekämpfung durch Natriumbikarbonat. Das starke Auftreten dieses Pilzes im Jahre 1899 gab Veranlassung, das Mittel weiter zu erproben, nur wurde diesmal eine 2-proz. Lösung des einfach kohlensauren Natrons (Soda) angewendet. Der Erfolg war wieder ein vollständiger. Die Pilzhäufchen vertrockneten unter Farbenwechsel, die befallenen Triebe und Blätter aber wuchsen ungestört weiter, die Beeren hatten ebenfalls nicht gelitten, sondern waren völlig ausgereift; die Infektionsstellen waren noch kenntlich an einer dünnen hellbraunen Korksicht, die aber nirgends ein Platzen der Beeren veranlaßt hatte.

Appel (Charlottenburg).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. ARTHUR WÜRZBURG,
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Untersuchungsmethoden, Instrumente u. s. w.

Maurel, E., Note relative à la communication du Dr. Mayet sur la phagocytose du bacille d'Eberth et sur le procédé le plus favorable pour l'examen de ce phénomène. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1901. No. 6. p. 157—160.)

Thomann, Ueber die Brauchbarkeit verschiedener Nährböden für die bakteriologische Warenuntersuchung. (Schweizer. Wchschr. f. Chemie u. Pharm. 1901. No. 13. p. 159—161.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

- Biffen, E. H.**, On the biology of *Bulgaria polymorpha*, Wett. (Annals of botany. 1901. March. p. 119—134.)
- Bokorny, Th.**, Die Enzyme — Proteinstoffe aus dem Protoplasma stammend? (Allg. Brauer- u. Hopfen-Ztg. 1901. No. 74. p. 849—850.)
- Busck, A.**, *Nephtula pomivorella* Packard; alias *Micropteryx pomivorella* Packard. (Canad. entomologist. 1901. No. 2. p. 52.)
- Butkewitsch, Wl.**, Ueber das Vorkommen eines proteolytischen Enzyms in gekeimten Samen und über seine Wirkung. (Hoppe-Seyler's Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. XXXII. 1901. Heft 1/2. p. 1—53.)
- Cockerell, T. D. A.**, Notes on some coccidae of the earlier writers. (Entomologist. 1901. March. p. 90—93.)
- Bhrhorn, E. M.**, New coccidae from California. (Canad. entomol. Vol. XXXII. 1900. No. 10. p. 311—318.)
- Grimbert, L.**, Production d'acétylméthylcarbinol par le *Bacillus tartricus*. (Compt. rend. de l'Acad. d. scienc. T. CXXXII. 1901. No. 11. p. 706—709.)
- Henneberg, W.**, Hefe fressende Amöben eines Schleimpilzes (*Physarum leucophaeum* Fr.) und Hefe fressende Tieramöben. (Wchschr. f. Brauerei. 1901. No. 12, 13. p. 159—161, 173—175.)
- Ikeno, S.**, Studien über die Sporenbildung bei *Taphrina Johansonii* Sad. (Flora. 1901. Heft 2. p. 229—237.)
- King, G. B.**, The coccidae of the Ivy. (Canad. entomol. Vol. XXXII. 1900. No. 7. p. 214—215.)
- Laveran et Mesnil, F.**, Sur la nature centrosomique du corpuscule chromatique postérieur des Trypanosomes. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1901. No. 12. p. 329—331.)
- Leonardi, G.**, Saggio di sistematica degli *Aspidiotus*. (Riv. di patol. vegetale. Vol. VIII. 1899/1900. No. 7/12. p. 298—363.)
- McLachlan, E.**, *Chrysopa dorsalis* Wurm., a species new to Britain. (Entomol. monthly magaz. Vol. XII. 1901. No. 2. p. 39.)
- Newstead, E.**, On the progress in the study of the Coccidae. (Entomol. record. Vol. XIII. 1901. No. 2. p. 57—59.)
- v. Eöder, V.**, Zur Biologie der Fliege *Hypoderma bovis* Deg. (Insekten-Börse. 1901. No. 14. p. 107—108.)
- Tassi, Fl.**, *Novae micromycetum species descriptae et iconibus illustratae*. (Bullett. d. laborat. ed orto botan. Siena. Vol. III. 1900. Fasc. 3/4. p. 117—132.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Nahrungs- und Genußmittel, Gebrauchsgegenstände.

Fleisch.

- Klaphake, J.**, Die Rinderfinne in Zeit und der Ministerialerlaß vom 30. Dezember 1897. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1900/01. Heft 7. p. 197—203.)

Wein, Weinbereitung.

- Laborde, J.**, Influence de la composition du vin sur le développement du ferment de la tourne. (Rev. de viticult. 1901. No. 375. p. 201—204.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitsserregende Bakterien und Parasiten.

- Barton, E. S.**, On certain galls in *Furcellaria* and *Chondrus*. (Journ. of botany British and foreign. 1901. No. 458. p. 49—51.)
- Burr, M.**, The locust pest in the Dobrudja. (Entomol. record. Vol. XII. 1900. No. 12. p. 329—330.)
- Burvenich, J.**, De oïdium der wijngaarden. (Tijdschr. over boomteelt. 1900. p. 304.)
- Comes, O.**, Sul malanno degli olivi, denominato „Brusca“ nel Leccese. (Bollett. di notizie agrar. 1901. No. 1. p. 4—8.)
- Dera**, Ueber die Anpflanzung amerikanischer Reben als Schutzmittel gegen die Reblauskrankheit auf Grund einer in Frankreich gemachten Studienreise. (Hessische landwirtschafil. Ztschr. 1901. No. 8. p. 74—79.)

- Descours-Desacres**, Observations relatives à la propagation dans les pommerais du *Nectria ditissima*. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXII. 1901. No. 7. p. 488—489.)
- Doutte**, Le phylloxéra en Champagne. (Vigne franç. 1901. No. 3. p. 36—39.)
- Geweniger, O.**, Die Nematodenkrankheit. (Landwirtschaftl. Wchbl. f. Schleswig-Holstein. 1901. No. 9. p. 139—140.)
- Goethe, E.**, Beitrag zur Kenntnis des Apfelkrebeses. (Prakt. Ratgeber im Obst- u. Gartenbau. 1901. No. 10. p. 93—96.)
- Goričan**, Der schwarze Brenner (Anthraknose) und seine Bekämpfung. (Allg. Weinztg. 1901. No. 11. p. 104—106.)
- Houard, C.**, Description de deux zoocécidies nouvelles sur *Fagonia cretica* L. (Bullet. de la soc. entomol. de France. 1901. No. 3. p. 44—46.)
- Laborde, J.**, Sur la Coehylis et l'Eudemis. (Rev. de viticult. 1901. No. 379, 380. p. 320—326, 341—346.)
- Linhart**, Die kalifornische Rübenkrankheit. (Oesterr.-ungar. Ztschr. f. Zuckerindustrie u. Landwirtsch. 1901. Heft 1. p. 26—42.)
- Magnus, P.**, Ein Beitrag zur Geschichte der Unterscheidung des Kronenrostes der Gräser in mehrere Arten. (Oesterr. botan. Ztschr. 1901. No. 3. p. 89—92.)
- v. Oertzen**, Die Krankheit der Roterle in Mecklenburg-Schwerin. (Forstwissenschaftl. Centralbl. 1901. Heft 3. p. 111—114.)
- Potter, M. C.**, On a bacterial disease of the turnip, *Brassica Napus*. (Proceed. of the Royal soc. Vol. LXVII. 1900. p. 442—459.)
- v. Schilling**, Achtung! Die Kupferglucke tritt stark auf! (Prakt. Ratgeber in Obst- u. Gartenbau. 1901. No. 12. p. 119—120.)
- Zirngiebl**, Die Rübenblattwespe. (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1901. Heft 1. p. 4—6.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

- Gotthell, O.**, Botanische Beschreibung einiger Bodenbakterien. (Orig.) [Forts.], p. 449.

Referate.

- Lindner, F.**, Gärversuche mit verschiedenen Hefen- und Zuckerarten, p. 466.
- Noack, F.**, Pilzkrankheiten der Orangenbäume in Brasilien, p. 470.
- Beh**, Forstschädliche Insekten im Nordwesten der Vereinigten Staaten von Nordamerika, p. 473.
- Beuter, E.**, In Dänemark im Jahre 1898 beobachtete Krankheitserscheinungen, p. 469.
- , In Norwegen im Jahre 1898 aufgetretene Pflanzenkrankheiten, p. 470.
- Smith, G.**, The haustoria of the Erysipheae, p. 468.
- Smith, E. E.**, Botrytis and Sclerotinia: their relation to certain plant diseases and to each other, p. 469.
- Sydow, H.** und **Sydow, P.**, Zur Pilzflora Tirols, p. 467.
- Zimmermann, A.**, Korte opmerkingen over eenige ziekten en plagen van

koffie en bijcultures, waargenomen op eenige koffielanden in Oostjava, p. 471.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

- Albert, E.**, Einfacher Versuch zur Veranschaulichung der Zymasewirkung, p. 473.
- Schimper**, Anleitung zur mikroskopischen Untersuchung der vegetabilischen Nahrungs- und Genußmittel, p. 474.

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

- Klimmer**, Ziele und Wege der Milchhygiene, p. 475.
- Seelig, W.**, Erfolgreiche Bekämpfung des Traubenpilzes, p. 478.
- Taschenberg, E. L.**, Schutz der Obstbäume gegen feindliche Tiere, p. 476.
- Windisch, E.**, Ueber die Einwirkung des Kalkhydrates auf die Keimung, p. 477.

Neue Litteratur, p. 478.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Prof. Dr. J. Behrens in Weinsberg i. W.,
Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Dr. v. Freudenreich in Bern, Privatdocent
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Dr. G. Harris Morris
in London, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädenswil, Dr. Erwin F. Smith in
Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr.,
Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel
und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Berlin

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VII. Band.

Jena, den 20. Juni 1901.

No. 14.

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Botanische Beschreibung einiger Bodenbakterien.

**Beiträge zur Methode der Speciesbestimmung und Vorarbeit
für die Entscheidung der Frage nach der Bedeutung der Boden-
bakterien für die Landwirtschaft.**

Von Dr. O. Gotthell.

Mit 4 Tafeln.

(Fortsetzung.)

IV. Einige Notizen zu den Beschreibungen der Bakterien-species.

Von den hier beschriebenen Bakterien wurden alle von mir auf
einem der p. 2 angegebenen Substrate gefunden, mit Ausnahme von

Bacillus Carotarum Koch und *Bacillus mycoides* Flügge. *Bacillus Carotarum* habe ich deshalb mit untersucht, weil Koch (1888) p. 287 angiebt: „außer auf *Daucus Carota* habe ich *Bac. Carotarum* auch auf abgekochten Zuckerrüben gefunden“, da ich ebenfalls auch von gleichen Nährböden Bakterien untersucht hatte, so erschien es mir wichtig, *Bac. Carotarum* persönlich zu untersuchen, um so mehr, da diese Species einigen von mir selbst gefundenen Bakterien species nahe steht. *Bacillus mycoides* habe ich nur deshalb mit in Untersuchung gezogen, weil er eine so oft im Boden gefundene Form ist, welche z. B. mit *Bacillus ellenbachensis* vieles Uebereinstimmende zeigt, dieser Species auch sehr nahe steht, und deshalb genau charakterisiert werden mußte. Ich will dabei betonen, daß *Bacillus mycoides* von Herrn Prof. Flügge verhältnismäßig gut beschrieben war. Herr Geheimrat Prof. Dr. Flügge hatte die Liebenswürdigkeit, mir eine Kultur von *Bacillus mycoides* zur Verfügung zu stellen. Ebenso hatte Herr Rittergutsbesitzer Caron aus Ellenbach die Liebenswürdigkeit, mir eine seiner Kulturen zu übersenden; er sagt: „Anbei auf Wunsch Kultur des hier von mir weiter gezüchteten *Alinitbacillus*“. Beiden Herren sage ich hiermit meinen besonderen Dank.

In den Beschreibungen habe ich Wert darauf gelegt, wenn eine Erscheinung nicht ganz konstant war, oder wenn zu befürchten war, daß dieselbe nicht ganz konstant wäre, anstatt in der Form der „Gegenwart“ in der der „Vergangenheit“ zu sprechen.

Alle Beobachtungen wurden mit der $\frac{1}{12}$ homog. Immers., Apert. 1,30, von Zeiss in Jena, ausgeführt, und es ist bei Beurteilung der Angaben auf dieses Moment Rücksicht zu nehmen.

Wenn von Methylenblaulösung 1:40 die Rede ist, so verstehe ich darunter eine Lösung von 1 ccm alkohol. gesättigter Methylenblaulösung zu 40 ccm Wasser (A. Meyer. 1899. p. 433). Unter konzentrierter Methylenblaulösung verstehe ich eine Lösung von 1 ccm alkohol. gesättigter Methylenblaulösung in 10 ccm Wasser (A. Meyer. 1897. p. 192); unter Fuchsinlösung eine Lösung von 2 ccm alkohol, gesättigte Fuchsinlösung in 10 ccm Alkohol und 10 ccm Wasser (A. Meyer. 1899. p. 451). Die weiterhin verwandten Reagentien, wie Sudanlösung, Jodlösung, Chlorzinklösung, Safraninlösung, haben folgende Zusammensetzung: Sudanlösung = Sudan III (von Grübler & Co. Leipzig) 0,1 ccm in 20 ccm 95-proz. Alkohol (A. Meyer. 1899. p. 434); Jodlösung = 2,0 Jod, 1,0 Jodkalium, 200,0 Wasser (A. Meyer. 1899. p. 442); Chlorzinkjodlösung = 30,0 Chlorzink, 5,0 Jodkalium, 08,0 Jod, 14 ccm Wasser; Safraninlösung = 0,1 g Safranin, 50,0 Alkohol, 50,0 Wasser (A. Meyer. 1897. p. 197). Die Beschreibungen der morphologischen Eigenschaften sind so weit wie irgend möglich, von exakten, mittels des Zeichenprismas ausgeführten Zeichnungen begleitet worden, weil die Beschreibungen niemals die feinen morphologischen Unterschiede genau ausdrücken können. Die Zeichnungen sind alle mit Objektiv Immers. $\frac{1}{12}$, Ap. 1,3 und Okular V,

von Zeiss, mittels des Zeichenprismas ausgeführt. — Die Entfernung der Achse des Spiegels bis zur Zeichenfläche betrug ungefähr 27 cm, die Vergrößerung, genau gemessen, 1800.

V. Ueber das Vorkommen der beschriebenen Bakterien auf den untersuchten, unterirdischen Pflanzenteilen.

Ich fand: I. Auf *Apium graveolens*: *Bacillus graveolens*, *Bacillus asterosporus*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus ellenbachensis*, *Bacillus ruminatus*. Auf *Beta vulgaris altissima*: *Bacillus ruminatus*, *Bacillus subtilis* α und eine Hefe. Auf *Beta vulgaris lutea*: *Bacillus subtilis* α , *Bacillus asterosporus* und eine Hefe. Auf *Beta vulgaris rubra*: *Bacillus graveolens* α , *Bacillus ellenbachensis*. Auf *Beta vulgaris zonata*: *Bacillus ruminatus* α , *Bacillus pumilus*, *Bacillus ellenbachensis* und eine Hefe. Auf *Brassica Napus esculenta*: *Bacillus simplex*, *Bacillus ellenbachensis*, *Bacillus pumilus*. Auf *Brassica oleracea gongyloides*: *Bacillus tumescens*, *Bacillus asterosporus*, *Bacillus pumilus*. Auf *Brassica Rapa communis*: *Bacillus cohaerens*, *Bacillus ruminatus*. Auf *Daucus Carota*: *Bacillus tumescens*, *Bacillus asterosporus*, *Bacillus pumilus* α . Auf *Helianthus tuberosus*: *Bacillus cohaerens*, *Bacillus pumilus*. Auf *Iris sambucina*: *Bacillus asterosporus*, *Bacillus pumilus*. Auf *Petasites albus*: *Bacillus Petasites*, *Bacillus pumilus*. Auf *Petroselinum sativum*: *Bacillus graveolens* α . Auf *Phlomis Russeliana*: *Bacillus asterosporus*. Auf *Physostigma virginiana*: *Bacillus asterosporus*, *Bacillus pumilus*. Auf *Raphanus sativus vulgaris*: *Bacillus ellenbachensis*, *Bacillus pumilus*. II. Auf *Beta vulgaris lutea*: *Bacillus ellenbachensis*, *Bacillus subtilis* α , *Bacillus fusiformis*. Auf *Brassica Napus esculenta*: *Bacillus ellenbachensis*, *Bacillus asterosporus*. Auf *Brassica oleracea gongyloides*: *Bacillus ellenbachensis*, *Bacillus subtilis* α . Auf *Brassica Rapa communis*: *Bacillus graveolens*, *Bacillus pumilus*. III. Auf *Apium graveolens*: *Bacillus Petasites*. Auf *Beta vulgaris zonata*: *Bacillus ellenbachensis*, *Bacillus pumilus*. Auf *Brassica Napus esculenta*: *Bacillus tumescens*, *Bacillus ellenbachensis*. Auf *Brassica Rapa communis*: *Bacillus ellenbachensis*, *Bacillus pumilus*. IV. Auf *Beta vulgaris lutea*: *Bacillus ellenbachensis*. Auf *Beta vulgaris rubra*: *Bacillus tumescens* und ein neuer, von mir nicht mehr bestimmter *Bacillus*. Auf *Brassica Rapa communis*: 1) *Bacillus ellenbachensis*. 2) *Bacillus tumescens*. Auf *Daucus Carota*: *Bacillus tumescens*.

Gefunden wurde: *Bacillus asterosporus* auf *Apium graveolens*, *Beta vulgaris lutea*, *Brassica Napus esculenta*, *Brassica oleracea gongyloides*, *Daucus Carota*, *Iris sambucina*, *Phlomis Russeliana*, *Physostigma virginiana*; *Bacillus cohaerens* auf *Brassica Rapa communis*, *Helianthus tuberosus*; *Bacillus ellenbachensis* auf *Apium graveolens*, *Beta vulgaris lutea*, *Beta vulgaris zonata*, *Brassica Napus esculenta*, *Brassica Rapa communis*, *Brassica oleracea gongyloides*, *Raphanus sativus vulgaris*; *Bacillus fusiformis* auf *Beta vulgaris lutea*; *Bacillus graveolens* auf: *Apium graveolens*, *Beta vulgaris rubra* (α), *Brassica Rapa communis*, *Petroselinum sativum* (α); *Bacillus Petasites* auf *Apium graveolens*, *Petasites albus*; *Bacillus pumilus* auf *Apium graveolens*, *Beta vulgaris zonata*, *Brassica Napus esculenta*, *Brassica oleracea gongyloides*, *Brassica Rapa communis*, *Daucus Carota*, *Helianthus tuberosus*, *Iris sambucina*, *Petasites albus*, *Physostigma virginiana*, *Raphanus sativus vulgaris*; *Bacillus ruminatus* auf *Apium graveolens*, *Beta vulgaris altissima*, *Beta vulgaris zonata*, *Brassica Rapa communis*; *Bacillus simplex* auf *Brassica Napus esculenta*; *Bacillus subtilis* α auf *Beta vulgaris altissima*, *Beta vulgaris lutea*, *Brassica oleracea gongyloides*; *Bacillus tumescens* auf *Beta vulgaris rubra*, *Brassica Napus esculenta*, *Brassica oleracea gongyloides*, *Beta vulgaris rubra*, *Daucus Carota*.

Gefunden wurde: *Bacillus asterosporus*: in Ackererde (Handelsgärtnerei) und dem botan. Garten zu Marburg; sehr häufig gefunden. *Bacillus cohaerens*: in Ackererde (Handelsgärtnerei) und dem botan. Garten zu Marburg; 2 mal gefunden. *Bacillus ellenbachensis*: in Ackererde (Handelsgärtnerei), dem botan. Garten und umliegenden Feldern Marburgs, und

in Ackererde in der Umgegend von Danzig; sehr häufig gefunden. *Bacillus fusiformis*: in umliegenden Feldern Marburgs; 1 mal gefunden. *Bacillus graveolens*: in Ackererde (Handelsgärtnerei), umliegenden Feldern, dem botan. Garten Marburgs, Ackererde bei Gießen; mehrere Male gefunden. *Bacillus Petasites*: im botan. Garten zu Marburg; 2 mal gefunden. *Bacillus pumilus*: in Ackererde (Handelsgärtnerei) in Marburg, umliegenden Feldern, dem botan. Garten Marburgs und Ackererde bei Gießen; sehr häufig gefunden. *Bacillus ruminatus*: in Ackererde (Handelsgärtnerei) in Marburg; mehrere Male gefunden. *Bacillus simplex*: in Ackererde (Handelsgärtnerei) in Marburg; 1 mal gefunden. *Bacillus subtilis* α : in Ackererde (Handelsgärtnerei) und umliegenden Feldern Marburgs, mehrere Male gefunden. *Bacillus tumescens*: in Ackererde (Handelsgärtnerei), umliegenden Feldern Marburgs; in Ackererde in der Umgegend von Danzig; häufig gefunden. *Bacillus Carotarum*, *Bacillus mycoides* nicht gefunden.

VI. Die Resultate der Arbeit, welche sich auf das Vorkommen der beschriebenen Species beziehen.

Bei den Schlüssen über die Bedeutung des Vorkommens der verschiedenen Bakterien-species lassen wir *Bacillus Carotarum* und *mycoides* besser außer Acht, da dieselben vielleicht unter den von mir benutzten Isolierungsbedingungen sich nicht entwickelt haben könnten. Allerdings ist es auch möglich, daß sie in den untersuchten Bodenarten fehlten. Ferner ist zu betonen, daß die Zahl der Untersuchungen über die Verbreitung der Species eine noch zu geringe ist, so daß die Schlüsse, welche wir aus den vorliegenden Resultaten ziehen können, immerhin noch wenig zwingend sind.

Fast unzweifelhaft scheint aus dem Resultat meiner Untersuchungen hervorzugehen, daß keine der beschriebenen Species eine engere Beziehung zu einer der untersuchten Pflanzen besitzt. Die meisten der gefundenen Species scheinen den Kulturboden überall zu durchsetzen. Was den Grad der Häufigkeit der verschiedenen Species im Boden anbelangt, so scheint *Bac. ellenbachensis*, nach dem, was wir schon von ihm wußten und nach meinen Resultaten, von allen untersuchten Species am verbreitetsten zu sein. Er ist anscheinend überall im Boden zu finden. Er trat auch auf *Apium*, *Beta*, *Brassica*, *Raphanus* auf, ist also wohl direkt im Boden, unabhängig vom Pflanzenwuchs, überall verbreitet. Aehnlich verhält es sich mit *Bac. asterosporus* und auch mit *Bac. pumilus*, welche auf *Daucus*, *Apium*, *Beta*, *Brassica*, *Raphanus*, *Helianthus*, *Petasites*, *Physostigma*, *Iris* gefunden und auf verschiedenen Feldern angetroffen wurden. Auch *Bac. graveolens* und *Bac. tumescens* müssen als allgemein im Kulturboden verbreitete Formen angesehen werden. *Bac. cohaerens*, *fusiformis*, *Petasites*, *simplex*, *ruminatus* sind nicht ganz so häufig und nicht an allen Orten in dem Kulturboden zu finden. *Bac. subtilis* α scheint die Bodenform von dem sonst auf Gras überall verbreiteten *Bac. subtilis* zu sein. Vielleicht ist hier darauf hinzuweisen, daß alle von mir aus dem Boden erhaltenen Species peritrich begeißelt sind.

VII. Beschreibungen der untersuchten Bakterienspecies.

Bacillus ruminatus A. M. et Gottheil (Fig. I).

Möglicherweise synonym¹⁾: *Bacterium perittomaticum* Burchard. (Beiträge zur Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Bakterien, Inaug.-Diss. 1897; Arb. aus dem bakt. Inst. der techn. Hochsch. z. Karlsruhe. Bd. II. Heft 1. p. 11.)

Diese Species wurde auf *Apium graveolens*, *Beta altissima*, *Brassica Rapa* gefunden. Gelatineplattenkultur. Nach 3 Tagen findet man runde, weiße, mikroskopisch betrachtet, scharf umrandete, dunkle großkörnige Kolonien entwickelt. Die Gelatine wird bald verflüssigt²⁾. Gelatinestichkultur. An der Eintrittsstelle (das Ende des Stichkanals auf der Oberfläche) wurde die Gelatine nach 12 Tagen in Form eines kleinen Trichters von 0,5 cm Höhe verflüssigt. Der Flüssigkeitstrichter besaß oben 0,8 cm Durchmesser und erreichte noch nicht die Glaswand. Im Gelatinestich fand keine Entwicklung statt. Nach 60 Tagen war die Verflüssigung bis zu 2,5 cm Höhe fortgeschritten; soweit dieselbe reichte, war die Gelatine schwach getrübt, während sich am Boden der Verflüssigungssäule ein fester, sedimentartiger Belag abgesetzt hatte. Agarstrichkultur. Nach 18—24 Stunden ist eine mehr oder weniger dicke, schleimige, weißliche, stark glänzende Kolonie entwickelt, welche, mit der Lupe betrachtet, eine wellige, schwach runzlige Beschaffenheit zeigte. Die Kolonie war nicht häutig. Nach 2—3 Tagen wird dieselbe flacher und besteht dann stets größtenteils aus Sporen. Aeltere Agarkolonien werden erst gelblich, dann mehr oder weniger graubraun. Ich möchte hier erwähnen, daß 16 bis 20-stündige Agarkolonien von *Bacillus Peta-sites*, *Bacillus ruminatus*, *Bacillus tumescens* fast vollständig gleich aussehen. Agarstichkultur. Auf der Oberfläche wächst *Bacillus ruminatus* in dicker Schicht; im Agarstich wird die Kolonie nur wenige Millimeter unter der Oberfläche entwickelt. Wachstum auf steriler Möhrenscheibe. Eine Möhrenscheibe von 3 cm Durchmesser impfte ich mit 3 Monate altem, abgekochtem Sporenmateriale. Die Entwicklung geht schnell von statten; nach 4 Tagen war die ganze Möhrenscheibe von einer glasig-durchsichtigen, stark schleimigen, fadenziehenden Kolonie bedeckt, welche aus Einzel- und Doppelstäbchen, weniger aus vielstäbigen Zellfäden bestand, deren Stäbe viele kleine Fetttröpfchen gespeichert hatten. Nach 10 Tagen hatte die stark schleimige Beschaffenheit nachgelassen, die Kolonie war dick, gelblichweiß und etwas häutig geworden; nach 14 Tagen zeigte sie teils ein grau-marmoriertes, teils ein glasig durchsichtiges, zerflossenes Aussehen. Nach ungefähr 16 Tagen fand ich viele, teils fast kugelförmige, teils kurze, an den Enden zugespitzte Einzel- und Doppelstäbe,

1) S. Einleitung p. 464.

2) Ich habe überall nur die charakteristischen und annähernd konstanten Merkmale der Kolonien der Gelatineplatten-, Gelatinestich-, Agarstich- und Möhrenkultur beschrieben.

davon viele mit fertig entwickelten Sporen (Fig. Q, W). Kartoffelkultur. Nach ungefähr 9 Tagen war eine erhabene, weißliche, homogene, zähe Kolonie entwickelt, welche stark glänzte, aber nicht schleimig-fadenziehend war.

Entwicklungsgang von *Bacillus ruminatus* auf Dextroseagar. Das untersuchte Sporenmateriale war ungefähr 6 Monate alt. Die Sporen sind von oft schwankender Größe, durchschnittlich, ohne Hülle gemessen, $1,5-1,7 \mu$ lang und $0,8-1,1 \mu$ breit. Sie sind meistens ellipsoidisch, weniger cylindrisch, manchmal auch relativ schmal-länglich, manchmal etwas gekrümmt und meistens von einer unregelmäßig dicken, gerunzelten, membranartigen Hülle umgeben, welche mit Hilfe von Safraninlösung erkennbar wird. In Wasser oder auch in Chloraljod ist die Hülle nur als schwach lichtbrechender Streifen sichtbar (Fig. A, b). Vorzüglich eignet sich zur Erkennung dieser Hülle, welche vielleicht eine Schleimhülle ist, eine konzentrierte Methylenblaulösung (1 : 10). Eine verdünnte Methylenblaulösung (1 : 40) färbt die Hülle nicht, sondern nur schwach den äußeren Rand derselben (Fig. B), während die sorgfältige Färbung mit konz. Methylenblaulösung eine meist etwas körnige, dunkelblaue Auflagerung auf der Sporenmembran hervortreten läßt. Nach Durchfärbung der Sporen mit Methylenblau (1 : 10) erscheinen die Membranen derselben dunkelviolett, mit Fuchsin (1 : 10) intensiv rot; Exine und Intine sind mit Immersion Zeiß $\frac{1}{12}$, Ap. 1,3, nicht zu unterscheiden. (Fig. C a, b.) Die Hülle war sowohl an ganz jungen, wie auch an ganz alten Sporen nachweisbar und ist für diese Species charakteristisch. Dafür, daß die Hülle nicht Plasma ist, wie man annehmen könnte, spricht das Verhalten gegen Jodlösung, welche dieselbe nicht färbt. Diese eigentümliche Hülle verdient noch eingehenderer Untersuchung. Sporen, welche ich in mit gleichen Teilen Wasser verdünnten Agar gebracht hatte, keimten nach 3—4 Stunden, auf der Agarfläche keimten sie nach ungefähr 5—6 Stunden bei 28° . Sie schwellen stark an (Fig. D), und es ist dann an diesen stark angeschwellenen, kurz vor der Keimung stehenden Sporen die Hülle meist nicht mehr sichtbar. Die Keimung der Sporen erfolgte stets polar (Fig. E a, b, c), manchmal etwas schräg, oft erkennt man an dem einen Pole der Keimstäbchen die längsgestreckte, noch festhaftende Sporenmembran und an dem anderen Pole eine kleine Kappe, die auch von der Sporenmembran herrührt, von welcher das Keimstäbchen dieselbe abgerissen hat. Die Keimstäbchen werden meist bis 2- lang und ungefähr $1,39-1,5 \mu$ dick. Die relativ dünne Sporenmembran bleibt oft noch kurze Zeit als Anhängsel an den jungen Stäbchen haften (Fig. E d); manchmal sitzt dieselbe noch fest, wenn bereits ein kurzer Zellfaden aus dem Stäbchen entstanden ist (Fig. E, c). Die 6 Stunden alten Stäbchen sind relativ kurz, 1- bis 2- lang, noch homogen, fettfrei (Fig. F); nach 7 Stunden haben sie bereits Fetttropfen gespeichert (Fig. G). (Sudan-Methylenblaureaktion, s. Arthur Meyer. Flora. 1900.) Nach 7 Stunden findet man vorherrschend 2-, 4-, 6-, 8-, 12-, seltener bis 18-stäbige Zellfäden, deren Stäbe ungefähr $1,5 \mu$ dick un

charakteristischerweise 2-lang und 2-zellig sind (Chlorzinkjod). Diese Stäbchen schwärzten niemals; bei genauerer Beobachtung konnte man ein Schieben, eventuell eine langsame Eigenbewegung einzelner Stäbchen bemerken. Agarkolonieen, welche sich dagegen aus kurze Zeit abgekochten Sporen in 6 Stunden bei 28° und danach ungefähr 12—14 Stunden bei Zimmertemperatur entwickelt hatten, zeigten, bei noch relativ schwacher Entwicklung, im Kondenswasser Einzelstäbchen, wie 2-stäbige Zellfäden (Doppelstäbchen) in langsamer, aber deutlicher Schwimmbewegung. Nach ungefähr 15—16 Stunden, bei 28° findet man im oberen Teile der Agarkolonie Einzel- und Doppelstäbchen von normaler Dicke, deren Stäbe 1- bis 2-lang, 2-zellig (Fig. H) sind, mit oft äußerst kurzen Zellen, ferner bis 8-, seltener mehrstäbige Zellfäden, deren Stäbe häufig mehr oder weniger angeschwollen, jedoch noch länglich sind; sie haben Fettröpfchen gespeichert und in vielen ist bereits die Sporenvakuole angelegt und das Fett an das Ende des Stäbchens geschoben. Sporen sind noch nicht entwickelt. Im Kondenswasser findet man außer Einzel-, Doppelstäbchen und 4-stäbigen Zellfäden, deren Stäbe Fett gespeichert haben und meistens von normaler Dicke, seltener etwas angeschwollen sind, wenige normale 2-, 4- bis 20-stäbige Zellfäden, deren Stäbe je 2-zellig (Chlorzinkjod) noch homogen, fettfrei sind, welche also wahrscheinlich aus langsamer gekeimten Sporen resultieren. Selbst nachdem ich diese Species fast 3 Jahre in Kultur hatte, war nach 15 Stunden bei 28° keine Schwärmerbildung nachzuweisen. Nach 20—24 Stunden ist schon teilweise Sporenbildung eingetreten. Die Sporen sind meist nicht vollkommen mittelständig (Fig. I, K, L, M, O); die Sporangien sind oft relativ kurz. Häufig erkennt man in diesem Materiale 2-lange, aus 2 Sporangien bestehende Stäbchen (Chlorzinkjod). Man findet 2-, 4-, 6-, 8- bis 12-stäbige Zellfäden, deren Stäbe von normaler Dicke, wie auch, charakteristischerweise, ungleichmäßig angeschwollen und ungleichmäßig lang sind. Nach ungefähr 30—36 Stunden findet man außer Einzel-, Doppelstäbchen und 4- bis 8-stäbigen Zellfäden, deren Stäbe noch von normaler Dicke und Länge sind, viele Stäbe von wechselnder Länge und Dicke, oft mit anormal langen, stark angeschwollenen, abgerundeten Zellen (z. B. Fig. P). Die jetzt in großer Menge entwickelten Sporangien werden in bis 8-stäbigen Zellfäden mit aus meistens einlangen Sporangien bestehenden Stäben ausgebildet; häufig sind dieselben äußerst kurz, stäbchenförmig oder auch mehr rundlich. Die jetzt bereits vorkommenden, fertig entwickelten Sporangien sind fettfrei und man erkennt in denselben die runden, cylindrischen, länglichen, oft auch etwas spitz zulaufenden Sporen mit den charakteristischen Hüllen (Methylenblaureaktion) (Fig. O a, b). Die Sporangienmembranen sind relativ dick und lassen daher die Methylenblaulösung verhältnismäßig schwer hindurch, es ist deshalb bei Ausführung dieser Reaktion notwendig, daß man die Methylenblaulösung vor dem Auflegen der Deckgläser kurze Zeit auf das Sporangienmaterial einwirken läßt. Hervorheben möchte ich noch, daß nur bei den vollständig fertig entwickelten, fettfreien Sporangien die Reaktion ein-

tritt, es können die Sporenmembranen schon fertig ausgebildet sein (Fig. M, N), ohne daß durch die Färbung eine Hülle sichtbar wird. Untersucht man die bereits mit Hüllen ausgebildeten Sporangien mit Jodlösung, so werden die Hüllen als helle, durchsichtige Zonen sichtbar. Mit Dahliälösung (100 Wasser, 50 Alkohol, 12 $\frac{1}{2}$, Eisessig mit Dahlia warm gesättigt) werden die Hüllen nicht gefärbt. Mit der Sudan-Methylenblaufärbung wird die Sporenmembran rötlich gefärbt, während die Schleimhülle ungefärbt bleibt und das noch vorhandene normale Plasma eine schwache Blaufärbung annimmt. Nach ungefähr 38—40 Stunden findet man im oberen Teile der Agarkolonie meistens freiliegende Sporen, von verschiedener Form, ellipsoidisch, cylindrisch, länglich lineal, mit den charakteristischen Hüllen (Methylenblaureaktion), und ferner Sporangien, letztere seltener einzeln und zu zweien, vorherrschend, charakteristischerweise, lange Zellfäden mit aus 3, 6, 8 bis 16 und mehr, verschiedenartig abgerundeten Sporangien bestehenden Stäbchen bildend. Die Zellen sind von äußerst variabler anormaler Länge und Dicke, oft vollständig abgerundet. Man erkennt auch 2-, 3- lange Stäbe, in welchen 2—3 Sporen ausgebildet sind; die Septen ragen in diese 2 bis 3- langen, einzelligen Stäbe erst keilförmig hinein, sind also noch nicht vollständig entwickelt (Chlorzinkjod). In älteren Agarkulturen finden wir viele Involutionsformen, wie z. B. Fig. R a, b, c. Die Stäbchen der Agar- und Möhrenkulturen zeigten keinen normalen Schwärmzustand, während in einigen, später noch zu besprechenden Nährlösungen normale Schwärmer ausgebildet wurden. Es machte den Eindruck, als sei das Schwärmen durch die Schleimbildung verhindert.

Eine wirklich gute Geißelfärbung nach Loeffler ist mir nicht gelungen; aus den erhaltenen Präparaten ist aber zu erkennen, daß peritrich angelegte Geißeln vorhanden sind. Es zeigten die Präparate, welche ich mit größter Sorgfalt von jungem Agarmaterial angefertigt hatte, stets eine „Kapselfärbung“; es schienen mir die Geißeln stark verquollen zu sein. Die mit Möhrenmaterial ausgeführte Geißelfärbung zeigte eine um das Stäbchen gelagerte „Kapsel“, von welcher aus feine, dünne Fäden nach allen Seiten ausstrahlen (Fig. S). Ein mit Methylviolett dargestelltes Trockenpräparat machte den Eindruck einer Geißelfärbung (Fig. T). Ob nun durch Methylviolett eine Färbung der Geißeln erreicht ist, oder diese eigentümliche „Geißelfärbung“ durch den Schleim hervorgerufen worden ist, welcher den Geißeln anhaftet, vermag ich nicht zu entscheiden. Man erhält bei der Anfertigung von Trockenpräparaten mit Dahlia und Eisessig sehr gute „Kapselfärbungen“, und auch hier beobachtet man an vielen Bildern strahlig ausgebreitete Fäden. (Fig. U).

Entwicklungsgang in Nährlösung. Die Sporen von *Bacillus ruminatus* keimen gut in Nährlösung V (Asparagin 1, Glycerin 1, Rohrzucker 0,5, mineralische Lösung 100).

Nach dem Impfen mit Sporenmaterial und nach 1—2 Minuten langem Abkochen der Lösung entwickeln sich nach 15 Stunden bei 28° meist 1 bis 2- lange Einzel- und Doppelstäbchen, von denen

nur wenige schwärmten. Nach 3 Tagen beobachtet man den Zerfall in kürzere Einzelstäbchen. Nach 5–6 Tagen ist meist eine normalere Schwärmthätigkeit vorhanden, als anfangs; doch es stellte sich dieselbe nicht immer zu ein und derselben Zeit ein. Nach 20 Tagen ist die Entwicklung kräftiger, die Lösung ist trübe, milchig, schleimig. In einer 25-tägigen Kultur findet man viele lebhaft Schwärmer, keine Sporenbildung. Eine 4 Wochen alte Kultur mit relativ wenigen Schwärmern goß ich in eine sterile Petri-Schale und fand nach 24 Stunden in der nun so flach ausgebreiteten Kulturflüssigkeit die meisten Stäbchen in äußerst lebhafter Schwärmbewegung, ein Zeichen, daß die Schwärmthätigkeit sehr von der Sauerstoffzufuhr abhängig ist.

Eine 4 Wochen alte Kultur ist stark schleimig. Sporenbildung war selbst nach 7 Wochen in dieser Nährlösung nicht zu konstatieren. Die Stäbchen, welche sich in dieser Lösung entwickeln, sind meist etwas schmaler und kürzer (1–1,3 μ breit) als die Stäbchen, welche sich auf Agar mit Dextrose entwickeln; sie haben aber doch viele kleine Fetttropfen gespeichert. (Fig. V a, b, c.)

Wachstum in den verschiedenen Nährlösungen.

Die Entwicklung in den Nährlösungen ist nach 4 Wochen bei 28° folgende: In Nährlösung No. 0 sehr starke Entwicklung. No. I + Marmor und No. I Lösung stark schleimig; viele Involutionsformen. No. II Entwicklung, aber nicht normal; keine Schwärmer. No. III fast unentwickelt geblieben; wenige lange anormale Fäden. No. IV sehr schwache ungesunde Entwicklung. No V gute Entwicklung; normale Stäbchen und Schwärmerbildung. No. V α sehr starke Entwicklung, Lösung stark schleimig; Schwärmer. No. V β u. γ Lösung schleimig von schwach saurerer Reaktion; Kultur nicht normal; vereinzelte Schwärmer; nach 8 Wochen zahlreiche Sporen und Involutionsformen. No. V δ Entwicklung nicht stark, aber normale Schwärmer. No. VI wenige normale, abgerundete Stäbchen, Lösung schwach entwickelt, nicht schleimig. No. VII. Kräftige Entwicklung, Lösung etwas schleimig, noch nach 9 Wochen viele Schwärmer. No. VIII. Keine Entwicklung. No. IX. Schwache Entwicklung, viele zugespitzte Stäbchen. No. X. Erst tagelang keine Entwicklung, dann nach 4 Wochen kräftige Entwicklung, Schwärmer. No. XI. Keine Entwicklung.

Die Intensität des Wachstums in den soeben angeführten Nährlösungen läßt sich durch folgende Tabelle darstellen:

Intensitätstabelle:

0	I	I + Marmor	II	III	IV	V	V α	V β	V γ	V δ	VI	VII	VIII	IX	X	XI
4	4	4	3	0-1	1	3	4	2	2	2	2	3	0	1	3	0

Säurebildung. Zur Untersuchung der Säurebildung setzte ich *Bacillus ruminatus* in den Nährlösungen I und V in Kõlben an. Nachdem diese Kulturen 4 Wochen bei 28° gestanden hatten, gebrauchte ich für 10 ccm der Lösung I 1,6 ccm, für die Lösung selbst ohne Bakterienentwicklung, 0,6 ccm $\frac{1}{10}$ Normal-Kalilauge zur Neutralisation; folglich waren für 10 ccm der Lösung I, nach Entwicklung von *Bacillus ruminatus*, 1 ccm $\frac{1}{10}$ Normal-Kalilauge zur Sättigung erforderlich. Für die Lösung V, ohne Bakterienentwicklung, waren 0,3 ccm $\frac{1}{10}$, Normal-Kalilauge, nach 4-wöchentlicher Entwicklung von *Bac. ruminatus* waren 0,8 ccm $\frac{1}{10}$ Normal-Kalilauge zur Neutralisation erforderlich. Folglich

waren für 10 ccm der Lösung V, nach Entwicklung von *Bac. ruminatus* 0,5 ccm $\frac{1}{10}$ Normal-Kalilauge zur Sättigung nötig. Als Indikator benutzte ich Rosolsäure. Kurz ausgedrückt wären also die Resultate der Untersuchung die folgenden.

Säurebildung. Indikator: Rosolsäure 1) 10 ccm Nährlösung I = 0,6 ccm $\frac{1}{10}$ Normal-Kalilauge, 10 ccm nach 4-wöchentlicher Entwicklung bei 28° = 1,6 ccm $\frac{1}{10}$ Normal-Kalilauge. Säurebildung in 10 ccm = 1 ccm $\frac{1}{10}$ Normal-Kalilauge. 2) 10 ccm Nährlösung V = 0,3 ccm $\frac{1}{10}$ Normal-Kalilauge, 10 ccm nach 4-wöchentlicher Entwicklung bei 28° = 0,8 ccm $\frac{1}{10}$ Normal-Kalilauge. Säurebildung in 10 ccm = 0,5 ccm $\frac{1}{10}$ Normal-Kalilauge.

Diastasebildung zur Untersuchung der Frage, ob von dem Spaltpilz Diastase gebildet werde, benutzte ich die Nährlösungen I und V, in welchen *Bacillus ruminatus* sich nach 4 Wochen bei 28°, in den Kölbchen angesetzt, entwickelt hatte. Von diesen Lösungen verwandte ich je 8 ccm und fügte je 4 ccm der sterilen Stärkelösung (0,2 : 500) hinzu. Die näheren Angaben über die Diastaseuntersuchung habe ich bereits auf p. 20 gemacht. Es war starke Diastasebildung nachweisbar. Wir drücken das Resultat der Untersuchung kurz folgendermaßen aus:

Diastasebildung (untersucht in Nährlösung I und V) findet statt. Gasbildung ist nicht vorhanden.

Bacillus ruminatus a. A. M. et Gotthel.

Diese Species, welche ich auf *Beta zonata* gefunden hatte, zeigte nur kleine, aber konstante Unterschiede von *Bacillus ruminatus*.

Kurze Beschreibung der Agarkultur, soweit wie die Morphologie der Kolonie gegen *Bacillus ruminatus* abweicht.

Die 9 Monate alte Kultur, von welcher die Sporen entnommen wurden, hatte eine braune Farbe. Die aus abgekochtem Sporenmateriale auf der Agarfläche sich entwickelnde Kolonie war nach 20 Stunden in dicker, homogener, weißer Schicht entwickelt. Die Kolonie ist stark schleimig, häutig; es läßt sich diese ganze, lebhaft glänzende Kolonie von der Agarfläche wie eine dicke Haut abziehen. Man findet bis 50-stäbige Zellfäden, deren Stäbe 1- bis 2-lang, wie auch 1 bis 2-zellig sein können (Fig. x). Die Stäbchenmembranen sind stark verquollen und infolgedessen erscheinen diese Stäbchen meistens breiter als die Stäbchen von *Bac. ruminatus* (1,7—1,9 μ breit). Sowohl auf der Agarfläche, als auch im Kondenswasser sind die Zellfäden in gleicher Länge vorhanden, und es scheint mir hier die Bildung langer, vielstäbiger Zellfäden mit der Schleimbildung zusammenzuhängen. Teilweise ist schon Sporenbildung eingetreten. Nach 2 Tagen ist die Agarkolonie homogen, äußerst dickhäutig, stark schleimig-fadenziehend. Die Sporangien besitzen dieselben Formen, welche ich für *Bac. ruminatus* beschrieben habe. Auch nach 5 Tagen ist die Agarkolonie noch so stark schleimig fadenziehend. Die Involutionsformen sind in gleicher Weise ausgebildet, wie bei *Bac. ruminatus*; die Stäbe der vielstäbigen Zellfäden runden sich ab. Die Möhrenkultur zeigte das gleiche Aussehen wie die Agarkultur.

Entwicklung in den verschiedenen Nährlösungen. Die auftretenden Unterschiede sind durch gesperrten Druck gekennzeichnet. Die übrigen Entwicklungserscheinungen sind nicht erheblich von denen des *Bacillus ruminatus* verschieden.

Nach 4-wöchentlicher Entwicklung bei 28°, Nährlösung 0. Starke Entwicklung; Lösung schleimig. I u. I + Marmor: Starke Entwicklung, Lösung schleimig. II. Sehr starke Entwicklung, Lösung dickschleimig. III. Keine Entwicklung. IV. Keine Entwicklung. V. Starke Entwicklung, schleimiger Bodensatz. V α . Sehr starke Entwicklung, Lösung stark schleimig. V β . Lösung trübe, gute Entwicklung. V γ . Sehr starke Entwicklung. V δ u. VI. Entwicklung, Lösung trübe. VII. Kräftige Entwicklung. VIII. Keine Entwicklung. IX. Entwicke-

lung, schleimiger Bodensatz. X. Erst tagelang keine Entwicklung, dann schließlich nach 4 Wochen starke Entwicklung, schleimiger Bodensatz.

Intensitätstabelle.

0	I	I + Marmor	II	III	IV	V	V α	V β	V γ	V δ	VI	VII	VIII	IX	X	XI
3	3	3	4	0	0	3	4	3	4	2	2	3	0	2	3	0

Um zu versuchen, ob die Schleimbildung von *Bac. ruminatus* a durch Kulturbedingungen sich so ändern läßt, daß sie der Schleimbildung von *Bacillus ruminatus* ähnlich wird, versuchte ich folgendes: Sporen, welche sich in der Nährlösung VII, also einer Lösung mit nur 0,5 Proz. Rohrzucker entwickelt hatten, brachte ich auf sterile Möhrenscheiben, ließ sich auf diesen die Bakterien entwickeln und Sporen bilden und impfte die letzteren, selbstverständlich wie immer, nach Abkochen, auf Agar ohne Dextrose. Die auf diesem Agar entwickelten Sporen impfte ich nochmals auf Agar, ohne Dextrose, ließ wiederum Sporen entwickeln und impfte nun diese so erhaltenen Sporen wieder auf Agar mit Dextrose. Ich hoffte hierdurch die Art der Schleimbildung zu erzielen, wie ich dieselbe für *Bacillus ruminatus* kennen gelernt hatte, was jedoch nicht gelang; es blieb vielmehr die äußerst starke, häutige, schleimige Beschaffenheit der Kolonie dieser Species bestehen.

Da *Bacillus ruminatus* a auf an Kohlehydrat armem Nährmaterial schlechter wächst und nach dem soeben beschriebenen Versuch die für *Bac. ruminatus* beschriebene Art der Schleimbildung nicht zu erhalten war, versuchte ich noch umgekehrt *Bacillus ruminatus* in die stärker schleimige, häutige Wuchsform überzuführen. Dem gewöhnlichen Agar mit 1 Proz. Dextrose setzte ich noch 5 Proz. Rohrzucker zu und impfte ihn mit Sporen von *Bac. ruminatus*, ließ auf dieser Agarfläche Sporen entwickeln und verfuhr mit demselben Agar noch dreimal in gleicher Weise. Die Kolonien wurden stark schleimig, jedoch keine Kolonie zeigte eine häutige, zusammenhängende Wuchsform. Die dritte auf Agar mit Dextrose und Rohrzucker gezüchtete Kolonie zeigte nach 24 Stunden bei 28° viele stark angeschwollene, etwas abgerundete Stäbchen, welche vorherrschend zu langen Zellfäden vereinigt waren. Es waren 4-, 6-, 10-, 12- und mehrstäbige Zellfäden entwickelt, deren Stäbe unregelmäßig 2- und mehr lang und mit großen Fetttropfen angefüllt waren; es waren auch 1-stäbige, ungefähr 10- lange Zellfäden vorhanden, an welchen mit Chlorzinkjod keine Septierung nachweisbar war. In vielen Stäbchen waren Sporen entwickelt. Die vierte in gleicher Weise auf Agar gezüchtete Kolonie zeigte nach mehreren Tagen und selbst nach Wochen nur rundliche, mit Fett angefüllte Involutionsformen, keine Sporen.

Man kann danach diese Form noch nicht als eine Varietät von *Bac. ruminatus* betrachten, und ich will deshalb diese dem *Bacillus ruminatus* äußerst nahestehende Species als *Bacillus ruminatus* a bezeichnen.

Bacillus ruminatus a unterscheidet sich von *Bac ruminatus* nur durch folgende Eigenschaften:

- 1) Durch den stark schleimigen, dickhäutigen Kolonienwuchs auf Agar,
- 2) durch die Bildung sehr langer, vielstäbiger Zellfäden, deren Stäbe etwas breiter erscheinen als diejenigen von *Bacillus ruminatus*,
- 3) durch den schleimigen, stark häutigen Kolonienwuchs auf der Möhre,
- 4) durch ein relativ stärkeres Wachstum in den Nährlösungen V β und V γ.

Die Tabelle über die Wachstumsintensität in den Nährlösungen läßt erkennen, daß *Bacillus ruminatus* a in kohlenhydratärmeren Nährlösungen schlechter wächst als *Bac. ruminatus* und andererseits in einigen kohlehydratreichen Nährlösungen besser wächst als *Bac. ruminatus*. Danach scheint diese Form, die auf dem natürlichen Nährsubstrate viel Zucker findet (*Betazonata*), an Nährböden mit größerem Zuckergehalt angepaßt zu sein.

Wichtigste Merkmale der Species

„*Bacillus ruminatus*“.

Spore. Sporengröße: 1,5—1,7 μ lang, 0,8—1 μ breit (ohne Hülle gemessen) Sporenform: ellipsoidisch, cylindrisch, schmal läng-

lich; am häufigsten wie Fig. A B C a, b, c. Sporenhüllen (Methylenblaureaktion). Starke Anschwellung der Sporen vor der Keimung (Fig. D). Sporenkeimung polar (Fig. E a, b, c, d). Die Keimstäbchen werden normalerweise bis 2-lang und 1,39—1,5 μ dick. Auf Agar, nach 7 Stunden bei 28°, findet man 2-, 4-, 6-, 8-, 12-, seltener bis 18-ständige Zellfäden, deren Stäbe charakteristischer Weise meistens 2-lang und 2-zellig (Chlorzinkjod) sind (Fig. G, H); nach 15—16 Stunden Einzel- und Doppelstäbchen von normaler Dicke (1,39—1,5 μ), Stäbe 1- bis 2-lang, 2-zellig, viele Zellen äußerst kurz und bis 8-, seltener mehrstäbige Zellfäden, deren Stäbe häufig angeschwollen sind. Die Stäbchen von *Bac. ruminatus* a waren ungefähr 1,7—1,9 μ dick. Die Bakterien haben viele Fetttropfchen gespeichert (Sudan-Methylenblaureaktion). Nach 20—24 Stunden ist schon teilweise Sporenbildung eingetreten (Fig. I, K, L, M, N). Nach 30—36 Stunden: Sehr viele Sporangien, welche zum Teil, fertig entwickelt, fettfrei sind, deren Sporen die Hüllenfärbung geben (Methylenblaureaktion) (Fig. O a, b). Viele Stäbe von wechselnder Länge und Dicke, oft lange anormale, stark angeschwollene abgerundete Zellen (Fig. P). In älteren Agarkulturen findet man Involutionsformen, wie z. B. Fig. R a, b, c. Schwärmzustand war vorhanden in den Nährlösungen V, V α und VII. Die Schwärmer sind in diesen Nährlösungen 1- bis 2-lang und ungefähr 1,3 μ breit (Fig. V a, b, c). Die Geißelfärbung ist schwer ausführbar. Die Stäbchen sind peritrich begeißelt. Die Intensität des Wachses in den Nährlösungen O, I, V α = 3—4, III, IV = 0—1 ist charakteristisch. Die Agarstrichkultur ist nach 20 Stunden weißlich, homogen (*Bac. ruminatus*), bis dick häutig (*Bac. ruminatus* a); mehr oder weniger stark schleimig. Die Möhrenkultur ist nach ungefähr 4 Tagen glasig-schleimig-fadenziehend, nach 10 Tagen dick, weißgelblich, etwas häutig. Diastasebildung und schwache Säurebildung sind in Nährlösung V nach 4-wöchentlicher Entwicklung bei 28° nachweisbar. Die Gelatine wird relativ schnell verflüssigt.

Bacillus tumescens Zopf (Fig. II).

Möglicherweise synonym: *Bacillus granulosis* Russell (Untersuchungen über im Golf von Neapel lebende Bakterien. Zeitschrift für Hygiene. Bd. XI. 92. p. 194).

Litteratur: Zopf. 1885, Koch. 1888, Schreiber. 1896, Arthur Meyer. 1897, 99.

Diese Species wurde auf *Daucus Carota*, *Brassica oleracea gongyloides*, *Brassica Napus esculenta*, *Beta vulgaris rubra*, *Brassica Rapa communis* gefunden.

Das in dem Folgenden Mitgeteilte gründet sich auf eigene Beobachtungen; vieles ist bereits schon früher von den oben angegebenen Autoren mitgeteilt. Gelatineplattenkultur: Nach ungefähr 2 Tagen findet man unregelmäßige, rundliche oder mehr längliche, weiße, mikroskopisch betrachtet, körnige, dunkle, bei weit geöffneter Blende graubraun erscheinende Kolonien entwickelt. Die Gelatine wird bald verflüssigt. Gelatinestichkultur. Nach ungefähr 12 Tagen begann die Gelatine trichterförmig ein-

zusinken und zu verflüssigen; nach 26 Tagen war sie 1,3 cm, nach 8 Wochen 3 cm hoch verflüssigt. Die verflüssigte Gelatine ist trübe; am Boden derselben sammelt sich ein dicker, sedimentartiger Satz an, welcher nicht leicht flockig aufschüttelbar, sondern zusammenhängend, fadenziehend-schleimig ist. Agarstrichkultur. Nach dem Impfen mit abgekochten Sporen entwickelt sich nach 14 Stunden eine noch relativ dünne, weißliche, glasige Kolonie, welche nach 24 Stunden dicker, glatt, homogen, weißlich, mehr oder weniger schleimig, nicht häutig ist. Nach ungefähr 3 Tagen ist dieselbe wieder dünner, marmoriert, weißlich; mehrere Tage alte Kolonien, welche sich auf trocknerem Agar und ungefähr 2 Tage bei 28° und mehrere Tage bei Zimmertemperatur entwickelt haben, können auch etwas faltig aussehen; alte Agarkolonien werden graubraun. Agarstrichkultur. Die Oberfläche ist nach einigen Tagen von einer weißlichen, später grau werdenden Kolonie bedeckt; im Stich findet nur ganz dicht unter der Oberfläche Entwicklung statt. Wachstum auf steriler Möhrenscheibe. *Bac. tumescens* entwickelt sich auf der Möhre stets recht schnell. Nach 24 Stunden besaß die Kolonie schon 1 cm Durchmesser; sie besteht stets aus meist vielstäbigen Zellfäden, deren Stäbe vorherrschend 2-lang und 2-zellig sind (Fig. K a, b) und Fetttropfchen gespeichert haben; wenige von ihnen sind in langsamer Schwimmbewegung. Nach 3, 4 Tagen bedeckte die relativ dicke Kolonie die ganze Möhrenscheibe von 2 cm Durchmesser; sie war zähschleimig, aber nicht schleimig-fadenziehend. Eine andere Kolonie, die ich mehrere Monate später auf Möhre angesetzt hatte, war nach 3 Tagen stark schleimig-fadenziehend. Nach 5—6 Tagen ist die Kolonie dick, homogen, weißlich, stark schleimig, nach mehreren Wochen mehr grau; schließlich wird sie vollständig grau und zerfließt.

Entwicklungsgang von *Bacillus tumescens* auf Dextroseagar. Die Sporen sind von wechselnder Größe und Form; sie sind durchschnittlich 1,7—2 μ breit, 2,5—3 μ lang und mit einer Membran von sehr wechselnder Dicke versehen, welche meistens deutlich in Exine und Intine gegliedert erscheint. Gut ausgebildete Sporen sind ellipsoidisch, im Querschnitte kaum bemerkbar sechseckig, also fast kreisrund (Fig. C), und meistens etwas seitlich von ihren Polen mit je einem, hauptsächlich von der Exine gebildeten Spitzchen versehen. Recht gut gelingt die Beobachtung der Sporen mit Hilfe von Safraninlösung. Die am häufigsten vorkommenden Formen entsprechen den Fig. A a, b, c, d, e, f, g, h, i, k, l, m, n); seltener findet man Sporen wie Fig. A o und B a, b, c). Auf Agar keimen die Sporen nach ungefähr 5 Stunden bei 28°; sie schwellen vor der Keimung nicht stark an; letztere erfolgt stets durch äquatoriales, einseitiges Aufreißen der Membran, und mit Kurzstäbchen (Fig. D a, b, c, d, e). Die Keimstäbchen, welche nach kurzer Zeit der Ruhe zu schwärmen beginnen, werden 2- bis 3-lang und 1,39—1,5, seltener 1,7 μ breit; aus ihnen entstehen lange, vielstäbige Zellfäden, während die Sporenmembran oft noch an dem ersten Stäbchen festhaftet (Fig. D f). Nach 7—8 Stunden findet man vorherrschend bis 8-stäbige Zellfäden, deren Stäbe

2- bis 3-lang, noch vollständig homogen, fettfrei sind. Nach 15—16 Stunden sind Einzelstäbchen und 2-, 4-, seltener 8- bis mehrstäbige Zellfäden entwickelt, deren Stäbe 2-, seltener 3- bis 4-lang und von normaler Dicke sind, und meistens viele Fetttropfchen gespeichert haben; im Kondenswasser oder in der Nähe desselben sind viele lebhafte Schwärmer vorhanden. Nach 20—24 Stunden findet man in der Kolonie auf der Agarfläche Ruhestäbchen, welche meistens 1- bis 2-lang und 1- bis 2-zellig, oft mehr oder weniger stark angeschwollen und mit großen Fettmassen angefüllt sind (Fig. F a, b, c, d, e, f, g, h, i, k, l, m). Im oberen Teile der Agarkolonie sind bereits Sporen entwickelt; die Sporangien, mit end- und mittelständigen Sporen, sind jetzt noch häufig normal stäbchenförmig 2-lang, wie Fig. H, und schwärmen normalerweise nicht. Im Kondenswasser findet man manchmal noch wenige langsam schwärmende Stäbchen. Nach 36—40 Stunden sind außer normalen Sporangien, wie Fig. N a, b, c, d, e, O, vorherrschend und charakteristisch, vielstäbige Zellfäden vorhanden, deren Stäbe vollständig anormal, angeschwollen, oft kugelig abgerundet sind und größtenteils auch Sporen entwickelt haben, wie z. B. Fig. M a, b. Nach der Sudan-Methylenblaufärbung wird in den fertig entwickelten, fettfreien Sporangien die Sporenmembran gerötet, während die noch vorhandenen Plasmareste blau gefärbt erscheinen. Mit konz. Methylenblaulösung 1 : 10 tritt niemals eine Hüllenfärbung ein, wie wir dieselbe für *Bac. ruminatus* kennen gelernt hatten. An den nach Loeffler gefärbten Schwärmern erkennt man, an einem 2-langen Stäbchen, bis 12 peritrich angelegte Geißeln (Fig. G).

Entwicklungsgang in Nährlösungen. Die Sporen keimen in Nährlösung V (Asparagin, Glycerin, Rohrzucker, mineral. Lösung) und V β . Nach 15 Stunden bei 28° findet man Einzel-, Doppelschwärmer und vielstäbige Zellfäden, deren Stäbe 2- bis 3-lang (Fig. I) sind. Nach mehreren Tagen wird die Lösung dickschleimig, und es sind dann Einzel-, Doppelstäbchen und lange mehrstäbige Zellfäden vorhanden, deren Stäbe meistens, ebenso wie auf Agar nach 36—40 Stunden, angeschwollen und abgerundet sind, auch größere Fettmassen gespeichert haben; nach mehreren Wochen findet man noch viele lebhafte Schwärmer, jedoch keine Sporen. Konstant und charakteristisch scheint mir das Wachstum der Species in Nährlösung X zu sein. Nach Impfen mit Stäbchenmaterial von einer 14-stündigen Agarkolonie wurde die Lösung nach ungefähr 7 Tagen, bei 28°, nach dem Umschütteln trübe, fast milchigweiß, und ich fand dann in derselben vorherrschend 4-, seltener 2-lange, oft relativ dünne, lebhafte Schwärmer (Fig. L b, a).

Wachstum in den verschiedenen Nährlösungen. Nach 4-wöchentlicher Entwicklung bei 28°: Nährlösung O, I, I + Marmor. Sehr starke, schleimige Entwicklung, weißliche Randbildung. II, V. Starke Entwicklung, Lösung schleimig. III, IV. Schwache Entwicklung. Va. Sehr starke Entwicklung, Lösung dick, schleimig. V β . Sporen keimen, gute Entwicklung; nach 6 Tagen war die Lösung trübe, man fand vielstäbige Zellfäden, Stäbe oft angeschwollen, abgerundet, und Sporen entwickelt. Vy, V δ . Entwicklung findet statt; nach 4 Wochen viele Involutionsformen. VI. Lösung trübe; Entwicklung.

VII. Normale Entwicklung, noch Schwärmer. VIII und XI. Keine Entwicklung. IX. Ganz schwache Entwicklung. X. Entwicklung oft langsam; nach 4 Wochen starke Entwicklung, Lösung schleimig.

Intensitätstabelle:

0	I	I + M.	II	III	IV	V	V α	V β	V γ	V δ	VI	VII	VIII	IX	X	XI
4	4	4	4	1	1	4	4	3	2	2	2	3	0	1	3	0

Säurebildung. Indikator: Rosolsäure. 10 ccm Nährlösung VII = 0,3 ccm $\frac{1}{10}$ Normalkalilauge; 10 ccm nach 4-wöchentlicher Entwicklung = 0,6 ccm Normalkalilauge. Säurebildung in 10 ccm = 0,3 ccm $\frac{1}{10}$ Normalkalilauge. Diastasebildung (nach 4-wöchentlicher Entwicklung in den Nährlösungen I und V) ist nur schwach. Gasbildung ist nicht vorhanden.

Die wichtigsten Merkmale der Species „Bacillus tumescens“.

Spore. Sporengröße: 1,7—2 μ breit, 2,5—3 μ lang. Sporenform: Fig. A a, b, c, d, e, f, g, h, i, k, l, m, n, o, B a, b, c. Die Sporenmembran ist ohne Hilfe eines Reagens sichtbar; sie ist deutlich in Exine und Intine gegliedert. Die Sporen schwellen vor der Keimung nur relativ wenig an; die Keimung erfolgt äquatorial (Fig. D a, b, c, d, e, f). Die Keimstäbchen werden 2- bis 3-lang und 1,39—1,5, seltener bis 1,7 μ breit; nach einiger Zeit der Ruhe beginnen sie zu schwärmen. Auf Agar nach 7—8 Stunden bei 28° findet man bis 8-, seltener mehrstäbige Zellfäden, deren Stäbe 2- bis 3-lang sind; nach 20—24 Stunden Ruhestäbchen, welche oft stark angeschwollen sind und große Fetttropfen gespeichert haben (Fig. F a, b, c, d, e, f, g, h, i, k, l, m), im Kondenswasser oft noch wenige langsam schwärmende Stäbchen. Im oberen Teile der Agarkolonie sind Sporangien ausgebildet, wie Fig. H. Nach 36—40 Stunden sind außer normalen Sporangien, wie Fig. N a, b, c, d, e, O, charakteristischerweise noch mehrstäbige Zellfäden vorhanden, deren Stäbe angeschwollen und abgerundet sind, und Sporen gebildet haben, wie z. B. Fig. M a, b. An den nach Loeffler gefärbten Schwärmern erkennt man an einem 2-langen Stäbchen bis 12 peritrich angelegte Geißeln (Fig. G). Die Intensität des Wachses in den Nährlösungen 0, I, II, V, V α , V β , VII = 3—4 und III, IV, VIII, IX, XI = 0—1 ist charakteristisch. Agarstrichkultur. Nach 20—24 Stunden bei 28° ist eine homogene, relativ dicke, glänzende, mehr oder weniger stark schleimige Kolonie entwickelt; alte Agarkulturen werden grau-braun. Möhrenkultur. Nach mehreren Tagen ist eine dicke, homogene, weißliche, mehr oder weniger stark schleimige Kolonie entwickelt. Diastasebildung (untersucht in Nährlösung I und V) und Säurebildung (untersucht in Nährlösung VII und V) sind nur schwach. Gasbildung findet nicht statt. Die Gelatine wird verflüssigt.

Bacillus graveolens A. M. et Gottheil (Fig. III).

Möglicherweise synonym: *Bacillus mesentericus vulgatus* Flügge (Flügge, Mikroorganismen. 2. Auflage. 1886).

Diese Species wurde auf *Apium graveolens*, *Brassica Rapa communis* gefunden. Gelatineplattenkultur. Nach ungefähr 2 Tagen findet man meist rundliche, weiße Kolonien entwickelt, welche bei mikroskopischer Beobachtung grobkörnig, marmoriert, scharf abgegrenzt aussehen und häufig seitliche Ausstülpungen zeigten. Nach 3—4 Tagen kurz vor der Verflüssigung der Gelatine, waren die Kolonien unregelmäßig ausgebuchtet. Gelatinestichkultur. Die Kolonie beginnt auf der Oberfläche der Gelatine einen weißen Belag zu entwickeln und dann die Gelatine langsam, meistens keilförmig, zu verflüssigen. Nach 26 Tagen war die Gelatine in 1 cm Höhe verflüssigt, die tiefste Stelle der keilförmigen Verflüssigung mit gerechnet 1,5 cm hoch. Nach 8 Wochen war die Gelatine in 3,5 cm Höhe verflüssigt; sie war trübe, flockig und von einer dünnen Kahnhaut bedeckt. Am Boden der verflüssigten Gelatine sammelte sich ein weißlicher, sedimentartiger, flockiger, leicht aufschüttelbarer Satz an. Agarstrichkultur. Nach 20—24 Stunden war eine relativ dünne, häutige Kolonie entwickelt, welche bei Lupenbeobachtung sehr feine Runzeln zeigte. Vorzüglich erkennt man in der Nähe des Kondenswassers die häutige Beschaffenheit der Kolonie. Nach 36—40 Stunden sieht die Kolonie marmoriert, häutig, fein gewellt oder faltig aus; sie war nicht schleimig und nicht in so dicker Schicht entwickelt, wie z. B. eine *Tumescens*-kolonie nach gleicher Zeit. Nach 4 Tagen war die Kolonie meistens glatt, homogen, glänzend, seltener marmoriert, faltig; im oberen Teile mehr oder weniger grau, im unteren Teile weißlich, bis schwach gelblich. Aeltere, ungefähr 5—6 Tage alte Kulturen besaßen oft einen auffallenden trimethylamin-ähnlichen Geruch, welcher in den verschiedentlich angesetzten Kulturen einmal stärker, ein anderes Mal schwächer war. Eine sehr alte Agarkolonie ist graubraun. Agarstichkultur. Auf der Oberfläche entwickelt sich eine gelbliche, runzlige Kolonie; in den Agarstich dringt dieselbe bis 1,5 cm tief ein. Wachstum auf steriler Möhrenscheibe. *Bacillus graveolens* wächst auf der Möhre stets sehr schnell; schon nach 24 Stunden ist eine flache, glänzende, weißliche Kolonie von 1 cm Durchmesser entwickelt, welche aus kurzen, meist 1-langen Einzel- und Doppelstäbchen besteht, die Fetttropfen gespeichert haben; man findet fast keine mehrstäbige Zellfäden. Viele Stäbchen sind in äußerst lebhafter Schwärmtätigkeit. Nach 3 Tagen war die Kolonie fadenziehend-schleimig; nach 5 Tagen war die Möhrenscheibe, von 1,5 cm Durchmesser, von einer weißlichen, schleimigen, homogenen Kolonie bedeckt, die aus Schwärmern, Ruhestäbchen, Sporangien und freiliegenden Sporen bestand. Dieselbe war makroskopisch von einer Kolonie des *Bacillus tumescens*, welche Species dem *Bacillus graveolens* sehr nahe steht, kaum zu unterscheiden; bei mikroskopischer Untersuchung der Kolonie von *Bacillus graveolens*

findet man in charakteristischer Weise vorherrschend kurze Einzel- und Doppelstäbchen, wie Fig. Q a, b, c, d. Nach 14 Tagen ist die Kolonie zäh, gelblich; nach 4 Wochen findet man in derselben außer Sporen viele eigentümliche Involutionsformen, äußerst reich ernährte Formen, die große Mengen Fett gespeichert haben (Fig. R a, b, c, h). Eine 4–6 Wochen alte Kultur ist grau, zerflossen, von schwachem, etwas stinkendem Geruche. Kartoffelkultur. Nach 9 Tagen war eine gelbliche, zäh-schleimige, runzlig gewundene Kolonie entwickelt; nach 15 Tagen war dieselbe mehr grau und etwas faltig.
(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Einfluss des Vegetationszustandes verschiedener Hefen auf ihr Vermehrungs- und Gärvermögen.

Von Max Elliesen aus Weende.

Einleitung.

Die Lebensthätigkeit sämtlicher Organismen wird durch zwei Faktoren bedingt; erstens durch die innere Struktur oder angeerbte Disposition und zweitens durch äußere Einflüsse¹⁾.

Die innere Struktur der Organismen wird, bei normalen Verhältnissen, ausgenommen einige geringfügige Variationen, sich ungefähr immer gleich bleiben, treten jedoch äußere Einflüsse auf, so kann hierdurch die Struktur in mannigfacher Weise verändert werden, was dann wieder eine andere Lebensthätigkeit bedingt. Unter den erwähnten Einwirkungen sind zu verstehen Licht, Luft, Ernährung, Alter, Temperatur. Sie wirken sowohl auf den tierischen wie pflanzlichen Organismus, seien sie auch noch so einfach, ein und können die durchgreifendsten Veränderungen, je nachdem sie zu viel oder zu wenig vorhanden sind, hervorrufen.

Die Hefe ist eine einzellige Pflanze, ein Sprosspilz, zu den Saccharomyceten gehörig. Sie besteht aus der Zellmembran, dem schaumigen Protoplasma und dem Zellkern. Je nach dem Vegetationszustande der Zelle findet man dann noch Fetttropfchen, eiweißartige Körper sowie Zellsafttropfen²⁾.

Nach Fr. A. Lenssen³⁾ besteht der Zellkern aus einer Membran und einem Kernkörperchen. Letzteres befindet sich ungefähr in der Mitte des Kerns, nimmt den dritten Teil vom Durchmesser desselben ein, ist homogen und in der Regel kugelförmig. Der Kern selbst liegt dicht an der Zellwand, weshalb seine Membran an dieser Seite nicht sichtbar ist.

Die Vermehrung der Hefe in zuckerhaltigen Nährlösungen erfolgt durch Sprossung. Reess beschrieb im Jahre 1870 eingehend die Sporen der Hefezellen, während E. Hansen 1883 die Be-

1) Sachs, Pflanzenphysiologie.

2) Prior, Physiologie des Bieres. p. 319.

3) Centrabl. f. Bakt. etc. 1893. p. 369.

dingungen mitteilte, unter welchen die Hefe Ascosporen bildet. Diese Bedingungen bestehen in der Verwendung junger, gärtüchtiger Zellen, reichlicher Luftzufuhr und geeigneter Temperatur, die für viele Hefen bei ca. 30° C liegt¹⁾.

Die Hefe erleidet bei fortgesetzter Kultur unter verschiedenen Vegetationsbedingungen Aenderungen, sogenannte Variationen.

Die Variation der Hefe gelingt aber nicht so leicht, wie man bei dem einfachen, nur aus einer Zelle bestehenden Organismus annehmen sollte²⁾.

Hansen teilt mit, daß Zellen von Carlsberger Unterhefe No. I, welche in nicht gelüfteter Würze gezüchtet wurden, eine Zeit lang die Fähigkeit verloren hatten, unter den Verhältnissen der Brauerei auf normale Weise zu arbeiten. Carlsberger Unterhefe II verhält sich ähnlich, doch kehrte dieselbe schnell wieder in den alten Zustand zurück.

Hansen macht darauf aufmerksam, daß die Hefen, wie alle Organismen, mehr oder minder voneinander verschieden sind, rund, langgestreckt und oval. Werden diese verschiedenen Variationen der Hefe wieder in Würze fortgepflanzt, so behalten sie ihre Form anfangs noch bei, dieselbe kehrt jedoch bei fortgesetzter Züchtung wieder zur Ausgangsform zurück, so daß dann alle Zellen rund oder oval sind.

Mit einer von Hansen aufgefundenen Hefeart, dem *Saccharomyces Ludovigii*, gelang es durch planmäßige Auswahl einiger Zellen, von welchen jede für sich kultiviert wurde, diese Art in drei verschiedene Vegetationsformen zu zerlegen, also tiefgehendere Umbildungen zu erzielen³⁾.

Diese Variationen unterscheiden sich durch eine mehr oder minder große Sporenentwicklung bezw. durch ein gänzlich Fehlen derselben.

Durch Aenderung der Nährlösung gelang es dann, die Hefe wieder in die Ursprungsform überzuführen.

Während hier durch Aenderung der Nährlösung die Hefe wieder zu ihrer ursprünglichen Eigenschaft, welche sich durch reichliche Sporenbildung auszeichnete, zurückkehrte, gelang es Hansen, den *Saccharomyces Past. I* durch Kultur in gelüfteter Würze, nahe seinem Temperaturmaximum, während längerer Zeit so umzubilden, daß er die in Bezug auf Morphologie und Systematik sehr wichtigen Eigenschaften, Sporen zu bilden und eine Hautbildung in allen Würzekulturen hervorzurufen, vollständig einbüßte⁴⁾.

Hansen gelang es auch, höher vergärende Hefen durch Züchtung in nieder vergärende umzuwandeln.

Die Arbeitsleistung der Hefe ist eine zweifache, erstens ist es die

1) Prior, Physiologie des Bieres.

2) Hansen, Untersuch. a. d. Praxis der Gärungsindustrie. Heft 1. 3. Aufl. p. 78 u. f. München u. Leipzig 1895.

3) Centralbl. f. Bakt. etc. 1889. p. 632 u. Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. 1889. p. 253.

4) Prior, Physiologie des Bieres. p. 327.

Gärwirkung und zweitens das Vermehrungsvermögen, welches hier in Betracht kommt. Je nach den Verhältnissen, Temperatur, Menge der Aussaat, Ernährung, ist es nun verschieden, welcher der beiden Komponenten zuerst überwiegt; sie können nacheinander auftreten und dann noch einige Zeit nebeneinander verlaufen, oder man kann die Hefe zwingen, nur nach einer Richtung hin zu arbeiten.

Ueber die Gärung, namentlich deren Ursachen, gehen die Ansichten noch auseinander. Nach der einen Meinung ist es die lebende Zelle, welche die Gärung hervorruft, nach der anderen nur die in der Zelle befindliche Zymase.

Im einen wie im anderen Falle beruht die Spaltung der zu vergärenden Flüssigkeiten darauf, daß dieselben durch Osmose in die Zelle hineingelangen und innerhalb der Zelle ihre Spaltung erleiden.

Die Osmose wird natürlich abhängen von der Beschaffenheit der Zellmembran. Wie schon eingangs erwähnt, erleiden aber sämtliche Organismen durch äußere Einflüsse mehr oder weniger durchgreifende Veränderungen. Um deren Wirkungen genau studieren zu können, ist es natürlich Hauptbedingung, immer mit genauen Quantitäten Hefen, in gleichen Vegetationszuständen, ebenso wie mit, ihrer Zusammensetzung nach, genau bekannten Nährlösungen und Gärflüssigkeiten zu arbeiten. Hess¹⁾ zeigte, daß eine verschiedene Stickstoffernährung entweder mit Hefewasser oder Asparagin und Pepton einen wesentlichen Unterschied in Bezug auf Vermehrungs- und Gärvermögen hervorrief, ebenso bewies Korff²⁾, daß die Gärung ganz anders verlief, wenn Luft oder Sauerstoff Zutritt hatten, als bei Ausschluß derselben. Bei beiden Versuchen wurde die Temperatur immer auf ca. 25° C gehalten, die für den Verlauf der Gärung am günstigsten befunden wurde. Zur Anwendung kam ebenso in beiden Fällen nur junge, gärtüchtige, in Bierwürze gezüchtete Hefe.

Einen bisher noch nicht exakt untersuchten Einfluß übt das Alter der Zellen und der dadurch bedingte Vegetationszustand auf die Gärung aus. Durch dasselbe wird die Lebensthätigkeit der Zelle eine wesentlich verschiedene von der der jungen Zellen. Die nachstehenden Versuche wurden mit den beiden Hefen Froberg und Logos angestellt.

Die Hefen wurden aus jungen, gärtüchtigen Zellen gezüchtet, und zwar in der für Hefe am günstigsten befundenen Nährlösung, wie durch zahlreiche Versuche bewiesen, dem Saccharose-Hefewasser. Zur Vergärung kam ebenfalls eine 10-proz. Saccharose-Hefewasserlösung, so daß nur das höhere Alter der Zellen verschiedene Resultate liefern konnte. Es kamen die Hefen in drei Vegetationszuständen zur Verwendung:

1) junge, 24 Stunden alte,

1) Vergärung von Saccharose durch die Hefen Saaz, Froberg und Logos unter verschiedenen Ernährungsbedingungen. 1897.

2) Einfluß des Sauerstoffs auf Gärung, Gärungsenergie und Vermehrungsvermögen verschiedener Heferassen unter verschiedenen Ernährungsbedingungen.

2) 3 Wochen alte,

3) 8 Wochen alte.

Dadurch, daß die Hefen bis zur Verwendung in der von ihnen selbst vergorenen Flüssigkeit aufbewahrt wurden, veränderte sich natürlich ihr physiologischer Zustand wesentlich, was dann ebenfalls auch einen Einfluß auf die Leistungen zur Folge haben mußte.

Die Membran der Hefezellen ist ein sehr dünnes Häutchen, dasselbe wird aber durch das Alter dicker, namentlich unter dem Einfluß der in der Aufbewahrungsflüssigkeit enthaltenen Gärprodukte, Alkohol, Bernsteinsäure, Glycerin, flüchtige Säuren, vorwiegend Essigsäure, auch Spuren von Oxalsäure. Sie wirken als Gift auf die Zellen und dürften hierdurch die Membran für die Nährflüssigkeiten undurchdringlicher machen.

Möglicherweise erleidet auch das Plasma und das in demselben befindliche Enzym Veränderungen durch das Alter, jedoch läßt sich die Frage, ob hierin der Grund zu den veränderten Gärungserscheinungen zu suchen ist oder ob lediglich in der Veränderung der Membran, nicht entscheiden, sie kommt im vorliegenden Falle auch nicht weiter in Betracht.

In nachstehender Arbeit sind nur die Wirkungen der Hefen, welche sich in verschiedenen Vegetationszuständen befanden, die lediglich durch ein verschiedenes Alter bedingt waren, berücksichtigt. Temperatur, Ernährung, Gärgefäße, Aussaat blieben bei allen Versuchen genau gleich.

Die Dichte¹⁾ der Membran und damit das Durchlässigkeitsvermögen der Hefezellen ändert sich mit dem physiologischen Zustande der Hefen und ist bei jungen Zellen größer als bei älteren. Aber auch bei Hefen gleichen Alters ist das Durchlässigkeitsvermögen je nach den Ernährungs- und Vegetationsbedingungen verschieden und wird zum Teil von dem Vermögen, Pilzschleim abzusondern, beeinflusst. Das Durchlässigkeitsvermögen muß geringer sein, wenn die Zelle reichliche Mengen Pilzschleim ausscheidet, die Membran also gleichsam mit Pilzschleim überzogen ist, der eine zweite Membran bildet, welche die Hefenährstoffe zu durchdringen hat, ehe sie in das Innere der Zelle und zur Vergärung gelangen kann. Die Pilzschleimabsonderungen stehen mit den jeweiligen Vegetationsbedingungen in Beziehung, doch ist das Vermögen der Hefen, Pilzschleim abzusondern, bei den verschiedenen Hefearten verschieden.

Man kann also den Grund, daß sich die Hefen in den verschiedenen Vegetationszuständen so verschieden verhalten, zum Teil in folgenden Faktoren suchen:

1) Veränderung der Membran,

2) Einwirkung der Gärprodukte,

3) Veränderung des Zuckergehaltes mit fortschreitender Gärung.

Letzteres ist insofern von Einfluß, als die osmotischen Verhältnisse sich mit dem Grade der Lösungskonzentration ändern.

1) Prior, Physiologie des Bieres.

Dazu wären noch in Bezug auf die Buchner'sche Entdeckung die oben erwähnten Aenderungen des Plasmas bezw. seines Gehaltes an Zymase ergänzend anzuführen.

Der erste Teil meiner Arbeit bezweckt die Untersuchung des Vermehrungsvermögens, wobei selbstverständlich auch Unterschiede im Gärvermögen erzielt wurden, jedoch konnten dieselben nicht sehr variierend sein, da ich pro Kubikmillimeter nur 20 Zellen der verschiedenen Vegetationszustände ausgesät hatte, Es trat natürlich bald, je nach der angewandten Temperatur, eine lebhaftere Sprossung ein, so daß die Gärung eigentlich nicht mit alten Zellen durchgeführt wurde, wenngleich auch anzunehmen ist, daß die aus alten Zellen gebildete Hefe ein anderes Gärvermögen aufweist, als solche, welche aus ganz jungen, gärtüchtigen Zellen gewonnen wurde. Nach vollständiger Durchführung dieser Versuche ergab sich, wie schon länger bekannt, daß die Hefe nur imstande ist, eine ganz bestimmte Zahl von Zellen zu bilden.

Auf dieser Erscheinung baut sich nun der zweite Teil meiner Versuche auf. Die Versuche wurden unter denselben Bedingungen durchgeführt, wie die der ersten Reihe, nur wurden gleich zu Anfang pro Kubikmillimeter soviel alte Zellen ausgesät, als ich bei der Aussaat von 20 Zellen nach der längsten Gärdauer pro Kubikmillimeter erhalten hatte. Durch dieses Verfahren gelang es mir, die Thätigkeit der Hefe nur nach einer Richtung hin auszunutzen. Eine Vermehrung trat nicht mehr ein, so daß lediglich das Gärvermögen zur Geltung kam.

Experimenteller Teil.

Wie schon eingangs erwähnt, sind über die Unterschiede der Hefen bei der Vergärung in verschiedenen Vegetationszuständen noch keine exakten Versuche angestellt worden, entweder wurden Gärflüssigkeiten von stets verschiedener Zusammensetzung, wie Bierwürze, Weinmost, genommen, oder auch die Hefe wurde gewogen und somit konnten erklärlicherweise niemals genaue Resultate erzielt werden.

Um dies zu erlangen, habe ich stets, ihrer Zusammensetzung nach, genau bekannte Nährflüssigkeit verwandt, ebenso wie genau gezählte Hefequantitäten eingimpft.

Zu den Versuchen benutzte ich Gärkolben von immer gleicher Form und Größe, dieselben waren mit einem Gummistopfen verschlossen, dem eine mit Wasser gefüllte U-Röhre vorgelegt war, letztere war mit einem kleinen Wattebausch abgeschlossen, um die Luft hinzutreten zu lassen und um eine Infektion zu vermeiden. Sämtliche Teile waren im Wasserdampf sterilisiert.

Die Hefe wurde zu sämtlichen Versuchen in Kolben mit gewöhnlichem Watteverschluß in 10-proz. Saccharose-Hefewasser bei 25° C gezüchtet und aufbewahrt.

Zur Impfung wurde die Hefe erst mit sterilem Wasser gewaschen, sodann in einem Kolben mit sterilem Wasser gespült und, nach kräftigem, anhaltendem Schütteln, behufs Isolierung der einzelnen Zellen, mittels Zeiß'schen Hämatimeters gezählt. Mit

steriler Pipette wurde dann, je nach der gefundenen Zellenzahl, von dem hefehaltigen Wasser den Gärkolben zugesetzt.

Darstellung der Rohrzuckerlösung.

1 kg weißer Kandis wurde in $\frac{1}{2}$ kg destillierten Wassers gelöst und die Lösung sodann in 2 l heißen Alkohols filtriert. Der dabei sich ausscheidende Zucker wurde gesammelt, mit Alkohol und Aether ausgewaschen und getrocknet, bis sämtlicher Alkohol verdunstet war.

Mit diesem Zucker wurde eine 10-proz. Lösung in Wasser hergestellt, der zur Ernährung der Hefe Hefewasser zugesetzt wurde, so daß der Stickstoffgehalt 0,00896 g pro 100 ccm betrug. Diese Lösung wurde im Dampfstrom sterilisiert.

Vor dem Impfen blieben die Kolben zur Aufnahme von Sauerstoff noch mehrere Tage stehen.

Der Gehalt der Lösung an Rohrzucker wurde dann nach drei Methoden bestimmt:

- 1) durch das spezifische Gewicht,
- 2) durch Polarisation,
- 3) durch Kochen mit Fehling'scher Lösung nach der Weinschen Methode (nach vorhergegangener Inversion nach Clerget).

Nährlösung.

Brauereihefe wurde solange mit Wasser gewaschen, bis kein Zucker mehr nachzuweisen war, sodann wurde das Wasser durch Absaugen entfernt und nochmals öfter mit destilliertem Wasser nachgewaschen.

Die ziemlich trockene Hefe wurde in destilliertem Wasser gekocht (eine Stunde) und hierauf abfiltriert:

Der Stickstoffgehalt wurde nach Kjeldahl, die Säure nach Prior bestimmt.

Zusammensetzung der Saccharose-Hefewasserlösung pro 100 ccm:

9,5—9,8 g Saccharose,

0,00896 g Stickstoff,

3,3 ccm $\frac{1}{10}$ NaOH-Säure direkt titriert.

Zur Vergärung kamen jedesmal 150 ccm Lösung.

Ausführung der Analyse der vergorenen Flüssigkeit.

Die Flüssigkeit wurde, einschließlich der in der vorgelegten U-Röhre befindlichen, da dieselbe einen Teil der flüchtigen Gärprodukte enthielt, auf 300 ccm aufgefüllt und in dieser Lösung folgende Bestimmungen ausgeführt:

- 1) Hefezählung,
- 2) Polarisation,
- 3) spezifisches Gewicht,
- 4) Zuckerbestimmung nach Wein (Inversion nach Clerget),
- 5) Alkoholbestimmung,
- 6) Säurebestimmung.

Die Keimzählung wurde, wie beim Impfen, mittels Hämatimeters ausgeführt. Bei den Versuchen, in welchen sich die Hefe in zu großer Anzahl befand, wurden erst mehrfache Verdünnungen

vorgenommen, um eine genauere Zählung vornehmen zu können.

Die Polarisation war nötig, um den Gehalt an Dextrose und Lävulose, des noch vorhandenen Invertzuckers berechnen zu können.

Die Zuckerbestimmung wurde nach der Wein'schen Methode vorgenommen. 50 ccm einer entsprechend verdünnten Zuckerlösung und 50 ccm Fehling'scher Lösung wurden zusammen, vom Beginn des Siedens an, 2 Minuten im Kochen erhalten und das abgeschiedene Kupfer nach vorhergegangener Oxydation und Reduktion zur Wägung gebracht.

Inversion.

25 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit wurden mit 3 ccm starker (rauchender) Salzsäure versetzt und mit destilliertem Wasser auf 75 ccm aufgefüllt. Hierauf 5 Minuten bei 70° C, sodann 5 Minuten bei 71° C erwärmt, hierauf rasch abgekühlt, mit Natronlauge neutralisiert und mit Wasser auf 100 ccm ergänzt.

Nach entsprechender Verdünnung konnte die Lösung gekocht werden.

Alkoholbestimmung.

75 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit wurden in ein Pycnometer destilliert. Dasselbe wurde aufgefüllt, gut gemischt und auf 15° C temperiert. Durch Berechnung mittels der Hehner'schen Tabellen kann man den Alkoholgehalt des Destillats und somit auch der Originalflüssigkeit berechnen.

Die bei meinen Versuchen gefundenen Resultate sind in nachfolgenden Tabellen dargelegt.

Vorauszuschicken wäre noch, daß die Form der Hefe, namentlich bei der älteren, sich sehr bald veränderte, so daß die überwiegende Zahl der Zellen nicht die normale runde oder ovale, sondern schlauchförmige Gestalt zeigte.

(Siehe Tabellen p. 504—506.)

Die auf p. 504—506 stehenden Tabellen zeigen die Resultate, welche sich bei den Hefen Froberg und Logos in ihren verschiedenen Vegetationszuständen ergaben.

Sämtliche Versuche wurden bei 2 Temperaturen ausgeführt, bei 25° C und bei 6—8° C, wodurch natürlich ziemliche Abweichungen erhalten wurden.

Der Uebersicht halber seien in folgenden Tabellen die entsprechenden Zahlen zusammengestellt.

Vermehrungsenergie bei 25° C,
d. h. aus einer Zelle sind innerhalb 4 Tagen entstanden (Zellen):

	Froberg	Logos
24 Stunden alt	1640	1500
3 Wochen „	1400	2260
8 „ „	2040	2580

Aus dieser Tabelle wird ersichtlich, daß die Hefe Logos im jungen Stadium in der Vermehrungsenergie zurücksteht, bei 3 und 8 Wochen alter ungefähr um die Hälfte größer ist als bei junger Hefe.

Hefe Froberg, 24 Stunden alt.

Gärdauer	25° C				6-8° C			
	4 Tge	8 Tge	14 Tge	28 Tge	8 Tge	14 Tge	28 Tge	42 Tge
Gehalt der Zuckerlösung in %	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,7	9,8	9,8
Invertzucker vorhanden	4,3	1,73	1,68	—	0,86	5,02	6,19	1,92
Rohrzucker	—	—	—	—	8,98	4,37	—	—
" vergoren	5,72	8,16	8,2	9,8	—	0,55	3,9	7,9
" in %	58,4	83,3	83,7	100	—	5,67	39,8	80,6
" invertiert	9,8	9,8	9,8	9,8	0,82	5,33	9,8	9,8
" in %	100	100	100	100	8,4	54,9	100	100
Beobachtete Drehung in °	-3,96	-2,4	-2,16	± 0	+12,23	+ 3,5	-4,46	-2,83
Drehung d. vorh. Rohrzuck. in °	—	—	—	—	+ 0,48	+ 5,81	—	—
" " " Invertzuck. in °	-3,96	-2,4	-2,16	—	+11,75	-2,3	-4,46	-2,83
Dextros vorhanden	1,44	0,35	0,36	—	0,31	2,46	2,49	0,28
Lävulose	2,86	1,38	1,32	—	0,45	2,56	3,7	1,64
Alkohol in g	2,8	4,0	4,1	4,9	—	0,26	1,88	3,9
" in % vom Zucker	48,9	48,0	50,0	50,0	—	47,3	48,2	49,4
Säuren:								
Direkt titriert $\frac{1}{10}$ NaOH	10,2	16,2	19,7	20,0	2,6	6,1	10,6	29,3
Aussaat:								
Zellen pro cbmm vor d. Gär.	20	20	20	20	20	20	20	20
" " " nach " "	32 800	32 800	32 800	35 000	2880	16 800	17 600	28 800
Vermehrung	1 640	1 640	1 640	2 380	144	840	880	1 440
1 Million Zellen geben:								
Alkohol in mg	0,85	1,22	1,25	1,4	—	0,16	1,07	1,35
vergären Rohrzucker in mg	1,74	2,49	2,5	2,8	—	0,33	2,22	2,74
liefern Säuren $\frac{1}{10}$ NaOH	0,0031	0,0049	0,006	0,0057	0,009	0,0036	0,0067	0,01

Hefe Froberg, 3 Wochen alt.

Gärdauer	25° C				6-8° C			
	4 Tge	8 Tge	14 Tge	28 Tge	8 Tge	14 Tge	28 Tge	42 Tge
Gehalt der Zuckerlösung in %	9,8	9,8	9,52	9,52	9,8	9,52	9,52	9,8
Invertzucker vorhanden	5,02	0,63	0,36	—	0,26	1,296	5,75	3,28
Rohrzucker	—	—	—	—	9,45	8,3	—	—
" vergoren	5,04	9,2	9,18	9,52	—	—	4,06	6,8
" in %	51,13	93,8	96,4	100	—	—	42,6	68,2
" invertiert	9,8	9,8	9,52	9,52	0,35	1,22	9,52	9,8
" in %	100	100	100	100	3,6	12,8	100	100
Beobachtete Drehung in °	-4,2	-1	-0,16	± 0	+12,9	+10,66	-4,5	-4
Drehung d. vorh. Rohrzuck. in °	—	—	—	—	+12,6	+ 11	—	—
" " " Invertzuck. in °	-4,2	-1	-0,16	—	+ 0,3	-0,37	-4,5	-4
Dextrose vorhanden	1,82	0,07	0,18	—	0,2	0,71	2,19	0,76
Lävulose	3,2	0,56	0,18	—	0,06	0,58	3,56	2,52
Alkohol in g	2,27	4,6	4,6	4,76	—	—	2,0	3,35
" in % vom Zucker	45,0	50,0	50,0	50,0	—	—	49,2	50,2
Säuren:								
Direkt titriert $\frac{1}{10}$ NaOH	9,8	16,6	20,1	20,1	2,6	4,2	22	22,9
Aussaat:								
Zellen pro cbmm vor d. Gär.	20	20	20	20	20	20	20	20
" " " nach " "	28 000	32 000	44 800	45 000	800	7200	25 600	26 000
Vermehrung	1 400	1 600	2 240	2 250	40	360	1 280	1 300
1 Million Zellen geben:								
Alkohol in mg	0,81	1,44	1,3	1,05	—	—	0,78	1,3
vergären Rohrzucker in mg	1,8	2,88	2,5	2,12	—	—	1,58	2,57
liefern Säuren $\frac{1}{10}$ NaOH	0,0035	0,0052	0,0045	0,0044	0,03	0,0051	0,0086	0,0068

Hefe Froberg, 8 Wochen alt.

Gärdauer	25° C				6—8° C			
	4 Tge	8 Tge	14 Tge	28 Tge	8 Tge	14 Tge	28 Tge	42 Tge
Gehalt der Zuckerlösung in %	9,8	9,8			9,8	9,8	9,8	9,8
Invertzucker vorhanden	5,7	—			0,45	8,5	4,08	1,65
Rohrzucker	—	—			9,37	0,21	—	—
" vergoren	4,3	9,8			—	1,5	5,92	8,23
" " in %	4,39	100			—	15,3	60,4	84,0
" invertiert	9,8	9,8			0,43	9,59	9,8	9,8
" " in %	100	100			4,4	97,9	100	100
Beobachtete Drehung in °	—4,16	± 0			+12,27	—4,56	—4,1	—2,5
Drehung d. vorh. Rohrzuck. in °	—	—			+12,46	+ 0,28	—	—
" " Invertzuck. in °	—4,16	—			— 0,19	—4,84	—4,1	—2,5
Dextrose vorhanden	2,27	—	Vergoren	Vergoren	0,27	3,85	1,25	0,23
Lävulose	3,43	—			0,18	4,65	2,83	1,42
Alkohol in g	2,15	4,9			—	0,7	2,92	4,2
" in % vom Zucker	51,1	50,0			—	46,7	49,5	51,0
Säuren:								
Direkt titriert 1/10 NaOH	17,3	22,1			3,7	15,7	18,9	22,9
Aussaat:								
Zellen pro cbmm vor d. Gär.	20	20			20	20	20	20
" " " nach " "	40 800	42 000			1200	36 400	37 520	38 000
Vermehrung	2 040	2 100			60	1 820	1 876	1 900
1 Million Zellen geben:								
Alkohol in mg	0,54	1,17			—	0,19	0,78	1,1
vergären Rohrzucker in mg	1,05	2,33			—	0,41	1,58	2,17
liefern Säuren 1/10 NaOH	0,0042	0,0053			0,031	0,0043	0,005	0,006

Hefe Logos, 24 Stunden alt.

Gärdauer	25° C				6—8° C			
	4 Tge	8 Tge	14 Tge	28 Tge	8 Tge	14 Tge	27 Tge	42 Tge
Gehalt der Zuckerlösung in %	9,7	9,7			9,7	9,7	9,7	9,7
Invertzucker vorhanden	3,1	—			4,35	7,44	4,48	1,56
Rohrzucker	0,81	—			5,53	1,35	0,14	—
" vergoren	6,0	9,7			—	1,28	5,34	8,22
" " in %	61,9	100			—	13,2	55,0	84,7
" invertiert	8,89	9,7			4,17	8,42	9,59	9,7
" " in %	91,7	100			43,0	86,8	98,9	100
Beobachtete Drehung in °	+ 1,5	± 0			+ 6,2	—2,3	—4,7	—2,5
Drehung d. vorh. Rohrzuck. in °	+ 1,07	—			+ 7,35	+ 1,8	+ 0,16	—
" " Invertzuck. in °	+ 0,43	—			—1,15	—4,1	—4,54	—2,5
Dextrose vorhanden	1,85	—	Vergoren	Vergoren	2,42	3,42	1,39	0,17
Lävulose	1,25	—			1,93	4,02	3,09	1,39
Alkohol in g	3,0	4,9			—	0,62	2,64	4,1
" in % vom Zucker	50	50,5			—	48,4	49,4	50,0
Säuren:								
Direkt titriert 1/10 NaOH	14,1	22,1			4,5	10,9	12,5	22,1
Aussaat:								
Zellen pro cbmm vor d. Gär.	20	20			20	20	20	20
" " " nach " "	30 000	70 000			6400	34 400	36 000	36 400
Vermehrung	1 500	3 500			320	1 720	1 800	1 870
1 Million Zellen geben:								
Alkohol in mg	1	0,7			—	0,18	0,73	1,13
vergären Rohrzucker in mg	2	1,39			—	0,37	1,48	2,26
liefern Säuren 1/10 NaOH	0,0047	0,0032			0,007	0,0031	0,0034	0,006

Hefe Logos, 3 Wochen alt.

Gärdauer	25° C				6—8° C			
	4 Tge	8 Tge	14 Tge	28 Tge	8 Tge	14 Tge	28 Tge	42 Tge
Gehalt der Zuckerlösung in %	9,7	9,7	9,7		9,7	9,7	9,7	9,7
Invertzucker vorhanden	1,28	0,16	—		0,27	2,46	5,49	3,2
Rohrzucker	4,57	—	—		9,4	7,3	0,94	—
" vergoren	3,9	9,55	9,7		—	—	3,55	6,6
" " in %	40,2	98,5	100		—	—	36,6	68,0
" invertiert	5,13	9,7	9,7		0,25	2,4	8,76	9,7
" " in %	52,9	100	100		2,6	24,7	90,3	100
Beobachtete Drehung in °	+ 4,83	- 0,3	± 0		+ 12,7	+ 8,83	- 3,5	- 3,6
Drehung d. vorh. Rohrzuck. in °	+ 6,07	—	—		+ 12,5	+ 9,7	+ 1,25	—
" " Invertzuck. in °	- 1,24	- 0,3	—		+ 0,2	- 0,87	- 4,75	- 3,6
Dextrose vorhanden	0,43	0,01	—	Vergoren	0,05	1,29	1,94	1,19
Lävulose	0,85	0,15	—		0,22	1,17	3,55	2,01
Alkohol in g	1,9	4,8	4,9		—	—	1,8	3,3
" in % vom Zucker	48,7	50,3	50,5		—	—	50,7	50,0
Säuren:								
Direkt titriert $\frac{1}{10}$ NaOH	11,7	22,1	23		2,5	3,7	19,7	22,1
Aussaat:								
Zellen pro cbmm vor d. Gär.	20	20	20		20	20	20	20
" " " nach " "	45 200	53 600	64 000		3200	5200	35 200	36 400
Vermehrung	2 260	2 680	3 200		160	260	1 760	1 820
1 Million Zellen geben:								
Alkohol in mg	0,42	0,9	0,78		—	—	0,51	0,91
vergären Rohrzucker in mg	0,86	1,77	1,51		—	—	1,0	1,81
liefern Säuren $\frac{1}{10}$ NaOH	0,0026	0,0041	0,0036		—	—	0,0056	0,0061

Hefe Logos, 8 Wochen alt.

Gärdauer	25° C				6—8° C			
	4 Tge	8 Tge	14 Tge	28 Tge	8 Tge	14 Tge	28 Tge	42 Tge
Gehalt der Zuckerlösung in %	9,8	9,8			9,8	9,8	9,8	9,8
Invertzucker vorhanden	1,43	—			0,26	1,74	5,4	2,5
Rohrzucker	2,28	—			9,55	8,13	—	—
" vergoren	6,16	9,8			—	—	4,67	7,4
" " in %	62,9	100			—	—	47,7	75,5
" invertiert	7,52	9,8			0,25	1,74	9,8	9,8
" " in %	74,7	100			2,6	17,75	100	100
Beobachtete Drehung in °	+ 1,26	± 0			+ 13,5	+ 11	- 4,1	- 3,5
Drehung d. vorh. Rohrzuck. in °	+ 3,03	—			+ 12,7	+ 10,8	—	—
" " Invertzuck. in °	- 1,77	—			+ 0,2	+ 0,2	- 4,1	- 3,5
Dextrose vorhanden	0,32	—	Vergoren	Vergoren	0,24	1,19	2,1	0,43
Lävulose	1,11	—			0,02	0,55	3,3	2,07
Alkohol in g	3,0	4,9			—	—	2,3	3,7
" in % vom Zucker	48,7	50,0			—	—	49,5	50,0
Säuren:								
Direkt titriert $\frac{1}{10}$ NaOH	18,9	25,0			2,9	2,9	18,9	19,7
Aussaat:								
Zellen pro cbmm vor d. Gär.	20	20			20	20	20	20
" " " nach " "	51 600	62 400			720	3520	57 200	57 200
Vermehrung	2 580	3 120			36	176	2 860	2 860
1 Million Zellen geben:								
Alkohol in mg	0,58	0,79			—	—	0,4	0,65
vergären Rohrzucker in mg	1,19	1,57			—	—	0,82	1,29
liefern Säuren $\frac{1}{10}$ NaOH	0,0037	0,004			—	—	0,0033	0,0034

Bei Hefe Froberg nimmt mit zunehmendem Alter die Vermehrungsenergie ab, um später wieder bei höherem Alter sogar noch die der jungen Hefe zu überbieten, bei Logos hingegen schreitet die Vermehrungsenergie mit höherem Alter stetig fort.

Vermehrungsenergie bei 6—8° C,
d. h. aus einer Zelle sind innerhalb 8 Tagen entstanden (Zellen):

	Froberg	Logos
24 Stunden alt	144	320
3 Wochen „	40	160
8 „ „	60	36

Bei einer Temperatur von 6—8° C treten andere Erscheinungen auf. Die Vermehrungsenergie bei der Hefe Froberg verhält sich analog wie bei 25° C nur, der Temperatur entsprechend in vermindertem Maße, während Logos einen bedeutenden Rückschritt zeigt, auch wird ersichtlich, daß bei 6—8° C die Vermehrungsenergie der Hefe Logos, wenigstens bei höherem Alter, noch unter die der Hefe Froberg sinkt.

Vermehrungsvermögen bei 25° C,
d. h. aus einer Zelle sind innerhalb 28 Tagen entstanden (Zellen):

	Froberg	Logos
24 Stunden alt	35 000	70 000
3 Wochen „	28 000	64 000
8 „ „	40 800	6 240

Vermehrungsvermögen bei 6—8° C,
d. h. aus einer Zelle sind innerhalb 42 Tagen entstanden (Zellen):

	Froberg	Logos
24 Stunden alt	2880	6400
3 Wochen „	800	3200
8 „ „	1200	720

Das Vermehrungsvermögen der Hefe Logos überwiegt in allen Altersstadien das der Hefe Froberg.

Bei Hefe Froberg nimmt das Vermehrungsvermögen, ebenso wie die Energie erst wieder ab, dann bei höherem Alter wieder zu, während Logos mit vorschreitendem Alter einen ständigen Rückschritt zeigt.

Die Kellerversuche bei 6—8° C verhalten sich analog.

Gärungsenergie bei 25° C,
d. h. eine Million Zellen zerlegten Milligramm Saccharose in 4 Tagen:

	Froberg	Logos
24 Stunden alt	1,74	2,0
3 Wochen „	1,8	0,86
8 „ „	1,05	1,19

Vorstehende Tabelle zeigt, daß bei Hefe Froberg die Gärungsenergie zuerst zu- und bei höherem Alter wieder abnimmt. Hefe Logos hingegen zeigt zuerst eine bedeutende Abnahme der Gärungsenergie und später wieder eine Zunahme.

Bei einer Temperatur von 6—8° C konnte noch keine Gärungsenergie konstatiert werden.

Gärwirkung bei 25° C,
d. h. eine Million Zellen zerlegten Milligramm Saccharose in 28 Tagen:

	Frohberg	Logos
24 Stunden alt	2,8	1,39
3 Wochen „	2,05	1,51
8 „ „	2,33	1,57

Die Gärwirkung verhält sich etwas verschieden von der Gärungsenergie.

Bei Frohberg ist zuerst wieder eine Abnahme zu konstatieren, später wieder eine Zunahme, während bei Logos eine stetige Zunahme zu beobachten ist.

Gärwirkung bei 6—8° C,
d. h. eine Million Zellen zerlegten Milligramm Saccharose in 42 Tagen:

	Frohberg	Logos
24 Stunden alt	2,74	2,26
3 Wochen „	2,57	1,81
8 „ „	2,17	1,29

Bei Kellertemperatur von 6—8° C wird die Gärwirkung beider Hefen mit zunehmendem Alter geringer.

Hefe Frohberg, 24 Stunden alt.

Gärdauer	25° C				6—8° C			
	4 Tge	8 Tge	14 Tge	28 Tge	8 Tge	14 Tge	28 Tge	42 Tge
Gehalt der Zuckerlösung in %	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8
Invertzucker vorhanden	—	—	—	—	5,064	0,94	—	—
Rohrzucker	—	—	—	—	—	—	—	—
„ vergoren	9,8	—	—	—	5,0	8,9	9,8	—
„ „ in %	100	—	—	—	51,0	90,8	100	—
„ invertiert	9,8	—	—	—	9,8	9,8	9,8	—
„ „ in %	100	—	—	—	100	100	100	—
Beobachtete Drehung in °	± 0	—	—	—	-4,16	-1,5	± 0	—
Drehung d. vorh. Rohrzuck. in °	—	—	—	—	—	—	—	—
„ „ „ Invertzuck. in °	—	—	—	—	-4,16	-1,5	—	—
Dextrose vorhanden	—	—	—	—	1,864	0,1	—	—
Lävulose	—	—	—	—	3,2	0,84	—	—
Alkohol in g	4,9	—	—	—	2,5	4,5	4,9	—
„ in % vom Zucker	50,0	—	—	—	50,0	50,0	50,0	—
Säuren:	—	—	—	—	—	—	—	—
Direkt titriert 1/10 NaOH	20,0	Vergoren	Vergoren	Vergoren	8,0	24,7	25,0	Vergoren
Aussaat:	—	—	—	—	—	—	—	—
Zellen pro cbmm vor d. Gär.	47 600	—	—	—	47 600	47 600	47 600	—
„ „ „ nach „ „	47 600	—	—	—	47 600	47 600	47 600	—
Vermehrung	—	—	—	—	—	—	—	—
1 Million Zellen geben:	—	—	—	—	—	—	—	—
Alkohol in mg	1,03	—	—	—	0,53	0,95	1,03	—
vergären Rohrzucker in mg	2,06	—	—	—	1,05	1,87	2,06	—
liefern Säuren 1/10 NaOH	0,004	—	—	—	0,002	0,0052	0,0053	—

Hefe Froberg, 3 Wochen alt.

Gärdauer	25° C				6-8° C			
	4 Tge	8 Tge	14 Tge	28 Tge	8 Tge	14 Tge	28 Tge	42 Tge
Gehalt der Zuckerlösung in %	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8
Invertzucker vorhanden	4,7	2,6	—	—	8,5	6,26	2,2	—
Rohrzucker	—	—	—	—	—	—	—	—
" vergoren	5,3	7,3	9,8	—	1,73	3,85	7,7	9,8
" " in %	54,1	74,5	100	—	17,7	39,3	78,6	100
" invertiert	9,8	9,8	9,8	—	9,8	9,8	9,8	9,8
" " in %	100	100	100	—	100	100	100	100
Beobachtete Drehung in °	-4,1	-3,2	± 0	—	-5,0	-4,83	-3,0	± 0
Drehung d. vorh. Rohrzuck. in °	—	—	—	—	—	—	—	—
" " Invertzuck. in °	-4,1	-3,2	—	—	-5,0	-4,83	-3,0	—
Dextrose vorhanden	1,65	0,6	—	—	3,79	2,41	0,42	—
Lävulose	3,05	2,0	—	—	4,71	3,85	1,78	—
Alkohol in g	2,6	3,6	4,9	—	0,84	1,9	3,9	4,9
" in % vom Zucker	49,1	49,0	50,0	—	48,6	49,3	50,0	50,0
Säuren:				Vergoren				
Direkt titriert $\frac{1}{10}$ NaOH	16,3	19,5	20,0	—	15,5	23,1	26,3	26,7
Aussaat:								
Zellen pro cbmm vor d. Gär.	45 000	45 000	45 000	—	45 000	45 000	45 000	45 000
" " " nach " "	45 000	45 000	45 000	—	45 000	45 000	45 000	45 000
Vermehrung	—	—	—	—	—	—	—	—
1 Million Zellen geben:								
Alkohol in mg	0,58	0,8	1,09	—	0,19	0,42	0,87	1,09
vergären Rohrzucker in mg	1,18	1,62	2,18	—	0,38	0,86	1,71	2,18
liefern Säuren $\frac{1}{10}$ NaOH	0,0036	0,0043	0,0044	—	0,0034	0,0051	0,0058	0,00591

Hefe Froberg, 8 Wochen alt.

Gärdauer	25° C				6-8° C			
	4 Tge	8 Tge	14 Tge	28 Tge	8 Tge	14 Tge	28 Tge	42 Tge
Gehalt der Zuckerlösung in %	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8
Invertzucker vorhanden	5,92	2,19	—	—	6,81	5,36	1,32	—
Rohrzucker	—	—	—	—	—	—	—	—
" vergoren	4,1	7,7	9,8	—	3,2	4,7	8,55	9,8
" " in %	41,83	78,57	100	—	32,65	47,95	87,24	100
" invertiert	9,8	9,8	9,8	—	9,8	9,8	9,8	9,8
" " in %	100	100	100	—	100	100	100	100
Beobachtete Drehung in °	-4,2	-2,6	± 0	—	-4,5	-4,26	-1,83	—
Drehung d. vorh. Rohrzuck. in °	—	—	—	—	—	—	—	—
" " Invertzuck. in °	-4,2	-2,6	—	—	-4,5	-4,26	-1,83	—
Dextrose vorhanden	2,4	0,46	—	—	2,87	2,02	0,83	—
Lävulose	3,52	1,73	—	—	3,94	3,34	0,49	—
Alkohol in g	2,0	3,7	4,9	—	1,55	2,3	4,27	4,9
" in % vom Zucker	48,8	48,05	50,0	—	48,43	48,93	49,94	50,0
Säuren:				Vergoren				
Direkt titriert $\frac{1}{10}$ NaOH	13,5	25,1	25,9	—	17,1	22,3	30,5	31,0
Aussaat:								
Zellen pro cbmm vor d. Gär.	42 000	42 000	42 000	—	42 000	42 000	42 000	42 000
" " " nach " "	42 000	42 000	42 000	—	42 000	42 000	42 000	42 000
Vermehrung	—	—	—	—	—	—	—	—
1 Million Zellen geben:								
Alkohol in mg	0,475	0,88	1,16	—	0,369	0,547	1,0166	1,166
vergären Rohrzucker in mg	0,952	1,833	2,33	—	0,761	1,12	2,035	2,33
liefern Säuren $\frac{1}{10}$ NaOH	0,0032	0,0059	0,0062	—	0,004	0,0053	0,0073	0,0074

Hefe Logos, 24 Stunden alt.

Gärdauer	25° C				6—8° C			
	4 Tge	8 Tge	14 Tge	28 Tge	8 Tge	14 Tge	28 Tge	42 Tge
Gehalt der Zuckerlösung in %	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8
Invertzucker vorhanden	—	—	—	—	4,64	2,06	—	—
Rohrzucker	—	—	—	—	—	—	—	—
" vergoren	9,8	—	—	—	5,4	7,9	9,8	—
" " in %	100	—	—	—	55,1	80,6	100,0	—
" invertiert	± 0	—	—	—	9,8	9,8	9,8	—
" " in %	—	—	—	—	100	100	100	—
Beobachtete Drehung in °	—	—	—	—	-4,8	-2,8	± 0	—
Drehung d. vorh. Rohrzuck. in °	—	—	—	—	—	—	—	—
" " Invertzuck. in °	—	—	—	—	-4,8	-2,8	—	—
Dextrose vorhanden	—	—	—	—	1,37	0,39	—	—
Lävulose	—	—	—	—	3,27	1,67	—	—
Alkohol in g	4,9	—	—	—	2,7	4,0	5,0	—
" in % vom Zucker	50,0	Vergoren	Vergoren	Vergoren	50,0	51,0	51,0	Vergoren
Säuren:								
Direkt titriert 1/10 NaOH	25,0	—	—	—	18,7	27,9	28,7	—
Aussaat:								
Zellen pro cbmm vor d. Gär.	70 000	—	—	—	70 000	70 000	70 000	—
" " " nach " "	70 000	—	—	—	70 000	70 000	70 000	—
Vermehrung	—	—	—	—	—	—	—	—
1 Million Zellen geben:								
Alkohol in mg	0,7	—	—	—	0,39	0,5	0,71	—
vergären Rohrzucker in mg	1,4	—	—	—	0,77	1,13	1,4	—
liefern Säuren 1/10 NaOH	0,0036	—	—	—	0,0027	0,004	0,0041	—

Hefe Logos, 3 Wochen alt.

Gärdauer	25° C				6—8° C			
	4 Tge	8 Tge	14 Tge	28 Tge	8 Tge	14 Tge	28 Tge	42 Tge
Gehalt der Zuckerlösung	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8
Invertzucker vorhanden	1,08	—	—	—	6,0	4,1	—	—
Rohrzucker	—	—	—	—	—	—	—	—
" vergoren	8,8	9,8	—	—	4,1	5,9	9,8	—
" " in %	89,9	100	—	—	41,8	60,0	100	—
" invertiert	9,8	9,8	—	—	9,8	9,8	9,8	—
" " in %	100	100	—	—	100	100	100	—
Beobachtete Drehung in °	-1,5	± 0	—	—	-4,1	-4,3	± 0	—
Drehung d. vorh. Rohrzuck. in °	—	—	—	—	—	—	—	—
" " Invertzuck. in °	-1,5	—	—	—	-4,1	-4,3	—	—
Dextrose vorhanden	0,2	—	—	—	2,49	1,2	—	—
Lävulose	0,88	—	—	—	3,51	2,9	—	—
Alkohol in g	4,4	4,9	—	—	2,0	2,95	4,9	—
" in % vom Zucker	50,0	50,0	Vergoren	Vergoren	48,8	50,0	50,0	Vergoren
Säuren:								
Direkt titriert 1/10 NaOH	29,1	30,0	—	—	15,9	29,9	30,0	—
Aussaat:								
Zellen pro cbmm vor d. Gär.	64 000	64 000	—	—	64 000	64 000	64 000	—
" " " nach " "	64 000	64 000	—	—	64 000	64 000	64 000	—
Vermehrung	—	—	—	—	—	—	—	—
1 Million Zellen geben:								
Alkohol in mg	0,69	0,77	—	—	0,31	0,45	0,765	—
vergären Rohrzucker in mg	1,38	1,53	—	—	0,64	0,92	1,53	—
liefern Säuren 1/10 NaOH	0,0045	0,0047	—	—	0,0025	0,0046	0,0047	—

Hefe Logos, 8 Wochen alt.

Gärdauer	25° C				6—8° C			
	4 Tge	8 Tge	14Tge	28Tge	8 Tge	14 Tge	28 Tge	42Tge
Gehalt der Zuckerp Lösung	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8
Invertzucker vorhanden	1,276	—			5,0	2,76	—	
Rohrzucker	—	—			—	—	—	
" vergoren	8,59	9,8			5,05	7,18	9,8	
" in %	87,7	100			51,53	73,26	100	
" invertiert	9,8	9,8			9,8	9,8	9,8	
" in %	100	100			100	100	100	
Beobachtete Drehung in °	—2,0	± 0			—3,83	—3,3	± 0	
Drehung d. vorh. Rohrzuck. in °	—	—			—	—	—	
" " Invertzuck. in °	—2,0	—			—3,83	—3,3	—	
Dextrose vorhanden	0,156	—	Vergoren	Vergoren	1,94	0,67	—	Vergoren
Lävulose	1,12	—			3,06	2,09	—	
Alkohol in g	4,2	4,9			2,4	3,54	4,9	
" in % vom Zucker	48,9	50,0			47,5	49,3	50,0	
Säuren:								
Direkt titriert 1/10 NaOH	23,9	25,1			19,1	22,7	23,0	
Aussaatz:								
Zellen pro cbmm vor d. Gär.	62 400	62 400			62 400	62 400	62 400	
" " nach " "	62 400	62 400			62 400	62 400	62 400	
Vermehrung	—	—			—	—	—	
1 Million Zellen geben:								
Alkohol in mg	0,67	0,78			0,384	0,56	0,785	
vergären Rohrzucker in mg	1,38	1,57			0,809	1,13	1,57	
liefern Säuren 1/10 NaOH	0,00382	0,004			0,00306	0,00363	0,00368	

In diesem zweiten Teil der Arbeit war eine Vermehrung der Zellen, wie bereits eingangs erwähnt, ausgeschlossen, und kommt somit nur die Gärungsenergie, sowie die Gärwirkung in Betracht, die, der Uebersicht halber, in nachstehenden Tabellen zusammengefaßt sind.

Gärungsenergie bei 25° C,
d. h. eine Million Zellen zerlegten Milligramm Saccharose in 4 Tagen:

	Frohberg	Logos
24 Stunden alt	2,06	1,4
3 Wochen "	1,18	1,38
8 " "	0,952	1,38

Gärungsenergie bei 6—8° C,
d. h. eine Million Zellen zerlegten Milligramm Saccharose in 8 Tagen:

	Frohberg	Logos
24 Stunden alt	1,05	0,77
3 Wochen "	0,38	0,64
8 " "	0,761	0,809

Wie vorstehende Tabellen zeigen, verhalten sich Hefe Frohberg und Hefe Logos in Bezug auf Gärungsenergie bei 25° C analog; beide nehmen mit zunehmendem Alter an Gärungsenergie ab, während sie bei 6—8° C zuerst ab- und bei höherem Alter wieder zunehmen.

Gärvermögen bei 25° C nach 28 Tagen:

	Frohberg	Logos
24 Stunden alt	2,06	1,4
3 Wochen "	2,18	1,53
8 " "	2,33	1,57

Gärvermögen bei 6–8° C nach 42 Tagen:

	Frohberg	Logos
24 Stunden alt	2,06	1,4
3 Wochen „	2,18	1,53
8 „ „	2,33	1,57

Hier fällt sofort ins Auge, daß das Gärvermögen beider Hefen bei 25° C und 6–8° C gleich ist, und daß beide Hefen mit Zunahme des Alters ein höheres Gärvermögen aufweisen.

Die Inversion war bei sämtlichen Versuchen der zweiten Reihe = 100 Proz.

Der auffallendste Unterschied bei Verwendung nur alter Zellen zeigt sich in der bedeutend höheren Produktion von Säuren, wie aus nachstehender Zusammenstellung ersichtlich wird:

Hefe Frohberg, Aussaat nur alter Zellen.

Alter	25° C				6–8° C			
	4 Tge	8 Tge	14 Tge	28 Tge	8 Tge	14 Tge	28 Tge	42 Tge
24 Stunden	20,0	—	—	—	8,0	24,7	25,0	—
3 Wochen	16,3	19,5	20,0	—	15,5	23,1	26,3	26,7
8 „	13,5	25,1	25,9	—	17,1	22,3	—	—

Hefe Frohberg, Aussaat von 20 Zellen pro Kubikmillimeter.

Alter	25° C				6–8° C			
	4 Tge	8 Tge	14 Tge	28 Tge	8 Tge	14 Tge	28 Tge	42 Tge
24 Stunden	10,2	16,2	19,7	20,0	2,6	6,1	10,6	29,3
3 Wochen	9,8	16,6	20,1	20,1	2,6	4,2	22,0	22,9
8 „	17,3	22,1	—	—	3,7	15,7	18,9	22,9

Die eingesetzten Zahlen geben den Verbrauch von $\frac{1}{10}$ Normalnatronlauge in Kubikcentimetern an.

Hefe Logos, Aussaat nur alter Zellen.

Alter	25° C				6–8° C			
	4 Tge	8 Tge	14 Tge	28 Tge	8 Tge	14 Tge	28 Tge	42 Tge
24 Stunden	25,0	—	—	—	18,7	27,9	28,7	—
3 Wochen	29,1	30,0	—	—	15,9	29,9	30,0	—
8 „	23,9	25,1	—	—	19,1	22,7	—	—

Hefe Logos, Aussaat von 20 Zellen pro Kubikmillimeter.

Alter	25° C				6–8° C			
	4 Tge	8 Tge	14 Tge	28 Tge	8 Tge	14 Tge	28 Tge	42 Tge
24 Stunden	14,1	22,1	—	—	4,5	10,9	12,5	22,1
3 Wochen	11,7	22,1	23,0	—	2,5	3,7	19,7	22,1
8 „	18,9	25,0	—	—	2,9	2,9	18,9	19,7

Die eingesetzten Zahlen geben den Verbrauch von $\frac{1}{10}$ Normalnatronlauge in Kubikcentimetern an.

Bei Hefe Froberg ist bei 25° C das Säureprodukt bei beiden Versuchsreihen, gleich bis auf die 8 Wochen alten Hefen, wo die jungen Zellen, bei Beginn der Gärung, etwas im Vorteil sind, später jedoch um geringes wieder zurückstehen.

Bei 6—8° C überwiegt zuerst die Säureproduktion der alten Zellen, bei längerer Gärdauer lassen sie jedoch nach, Säure zu produzieren und die jungen Zellen liefern mehr. Nur bei 3-wöchentlicher Hefe Froberg ist bei den alten Zellen auch bei Kellertemperatur eine Mehrproduktion von Säuren zu verzeichnen. Bei Hefe Logos überwiegt in allen 3 Alterstadien, sowohl bei 25° C als auch bei 6—8° C, die Säureproduktion der alten Zellen.

Wie vorstehende Resultate zeigen, sind die alten Hefen gegen Säuren bedeutend widerstandsfähiger als junge, denn die alten Hefen zeigten, trotz zum Teil wesentlich höheren Säuregehaltes, ein größeres Gärvermögen als die jungen, nur aus alten Hefen gezüchteten Zellen. Es darf hieraus jedoch ein Schluß für sämtliche Heferassen nicht gezogen werden, da sich ja schon, wie vorstehende Versuche ergeben, in Vermehrungsenergie und -vermögen, sowie auch Gärungsenergie ganz wesentliche Unterschiede zeigten.

Diese Arbeit wurde im Forschungslaboratorium der vom königlich bayerischen Staat subventionierten Versuchsstation für Bierbrauerei zu Nürnberg unter Leitung des Vorstandes Herrn Prof. Dr. E. Prior ausgeführt, und gestatte ich mir, an dieser Stelle meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. M. Reess, auf dessen Veranlassung hin ich die Arbeit ausführte, sowie Herrn Prof. Dr. Prior und Herrn Dr. Wiegmann für ihre Unterstützung mit Rat und That meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Referate.

Thaxter, Roland, Preliminary diagnoses of new species of Laboulbeniaceae. I, II. [Contributions from the Cryptogamic Laboratory of Harvard University XLI and XLII.] (Proceedings of the American Academy of Arts and Sciences. Vol. XXXV. 1899. No. 9. p. 153—209; Vol. XXXV. 1900. No. 21. p. 409—450.)

Seit der Veröffentlichung seiner Monographie der Laboulbeniaceae (Contribution toward a monograph of the Laboulbeniaceae; Memoirs of the American Acad. of Arts and Sciences. Vol. XII. 1896. No. 3) hat der bekannte amerikanische Gelehrte eine große Menge neuen Materials untersucht und zahlreiche neue Arten und Gattungen der merkwürdigen Pilzgruppe entdeckt, so besonders bei Prüfung der entomologischen Sammlungen im Jardin des Plantes

in Paris, des South Kensington Museum of Natural History in London, des Hope Museum in Oxford, der Sammlung italienischer Carabiden im Museo di Storia Naturale zu Florenz und des National Museum zu Washington. Verf. beabsichtigt, das Material in einem Supplement zu obiger Monographie mit Illustrationen später zu veröffentlichen; in den vorliegenden beiden „Beiträgen“ giebt er einstweilen die Diagnosen der neuen Arten und Gattungen. Es sind die folgenden:

I.

- Laboulbenia Acrogenis* n. sp. auf *Acrogenis hirsuta* Mac Leary, Brit. Mus., „Australia“ und Union Reefs, Australien. Am unteren hinteren Rande des Prothorax und den benachbarten Thoraxteilen.
- L. adunca* n. sp. auf *Galerita unicolor* Dej., Brit. Mus. Vom Amazonasstrom, auf der unteren Prothoraxfläche.
- L. Aerogenidii* n. sp. auf *Aerogenidium Bedeli* Tsch., Mon-Pin (China?), Paris. Am Rande der Flügeldecke.
- L. Anaplogeniei* n. sp. auf *Anaplogenius circumcinctus* Moh., Brit. Mus., China und an einem unbestimmten Carabiden des Pariser Museums von Madagascar. An den Flügeldecken.
- L. Anchonoderi* n. sp. auf *Anchonoderus subaeneus* Reiche, San Felix, Panama, und auf *A. binotatus* Reiche, Guatemala City, Brit. Mus. An Flügeldecken.
- L. angularis* n. sp. auf *Galerita unicolor* Dej., Brit. Mus., Amazonasstrom. Unterseite des Thorax.
- L. anomala* n. sp. auf *Orectogyrus suturalis* Reg., Paris, vom Zambesi, Afrika, und auf *O. glaucus* Klug., Brit. Mus., Coast Castle, Aegypten. An den Flügeldecken.
- L. aquatica* n. sp. auf *Gyretes?* sp., Pariser Mus., von Venezuela. Auf den Flügeldecken.
- L. aristata* n. sp. an einem Carabiden (*Pericallus?*), Hope Collection von Bouru, Ostindien. Am oberen Rande des Prothorax.
- L. asiatica* n. sp. auf *Casnonia* sp., Asien, Pariser Mus. Flügeldecken.
- L. assamensis* n. sp. auf *Catascopus?*, Brit. Mus., Assam, Indien. Unterseite.
- L. barbata* n. sp. auf *Morio Georgii* Pal., Brit. Mus., aus Mexiko; auf *M. simplex* Dej., Brit. Mus., Cayenne; auf *M. moniliformis* Latr., Hope Collection, Nordamerika. Flügeldecken.
- L. bicornis* n. sp. auf *Dineutes aereus* Klug., Brit. Mus., Hadramunt, Arabien; an *Dineutes* sp., Brit. Mus., Ambaca, Angolo, Westafrika. An Abdomen, Flügeldecken, Thorax und Kopf.
- L. bidentata* n. sp. auf *Homothis* sp., St. Georgés Sund, Australien, Hope Coll. Flügeldecken.
- L. Brachionychi* n. sp. auf *Brachionychnus* sp., Cochinchina; auf *Episcosoma laticollis*, Cochinchina; auf *Episcosoma* sp., Java, sämtlich in der Pariser Koll. Oberseite und Thorax.
- L. Cafii* n. sp. auf *Cafius seminitens* Horn und *C. canescens* Mann, U. S. National Mus., Los Angeles, Kalifornien; auf *C. sericeus* Holme, Brit. Mus., Großbritannien; auf *Cafius* sp., Brit. Mus., Europa, Hongkong; auf *C. bisulcatus* Sol., Chili. An Flügeldecken und Beinen.
- L. celestialis* n. sp. auf *Drypta lineola* Dej., Brit. Mus., China. Auf Flügeldecken.
- L. ceratophora* n. sp. auf *Serrimargo guttiger* Schaum., Hope Collect., Sumatra; auf *Miscelus Javanus* Klug., Hope Collect., Java; auf *Miscelus* sp., Neu Guinea, Pariser Mus. Auf Flügeldecken und Unterseite des Prothorax.
- L. ceylonensis* n. sp. auf *Hexagonia?*, Ceylon, Hope Coll. Auf Flügeldecken.
- L. chiriquensis* n. sp. auf *Calleida scintillans* Bates, Brit. Mus., Vale de Chiriqui, Panama. Rand der Flügeldecken.

- L. *Clivinalis* n. p. auf *Clivina collaris* Herbst, Brit. Mus., England; auf *Clavina fossor* L., Hope Coll., England; „Europa“, Florentiner Mus. von Italien. Meist an Flügeldecken und oberem Prothorax.
- L. *coarctata* n. sp. auf *Orectochilus?* Hope Coll., Brit. Mus., Bengalen. Flügeldecken.
- L. *Colpodis* n. sp. auf *Colpodes Chiriquensis* Bates, Brit. Mus. Vale de Chiriqui, Panama. Auf den Flügeldecken.
- L. *constricta* n. sp. auf *Orectogyrus glaucus* Klug., Brit. Mus. Coast Castle, Aegypten. Flügeldecken.
- L. *Coptese* n. sp. auf *Coptea armata* Lup., Brit. Mus. Santarem, Amazonenstrom, Brasilien. An Flügeldecken und oberem Prothorax.
- L. *corethropsis* n. sp. auf *Miscelus Javanus* Klug., Hope Collect., Java; auf *Miscelus* sp., Pariser Mus., Neu Guinea. Unterseite des Abdomens und Flügeldecken.
- L. *corrugata* n. sp. auf *Serrimargo guttiger* Schaum, Hope Collect., Sarawak, Borneo. An der Basis der Flügeldeckung.
- L. *cubensis* n. sp. auf *Dineutes longimanus* Oliv., Pariser Mus. Am Hinterleibsende.
- L. *dactylophora* n. sp. auf *Orectogyrus specularis* Rube, Paris. Mus., Goldküste Westafrika. Deckenrand.
- L. *Darwinii* n. sp. auf *Oezena parallela* W., Brit. Mus., Rio de Janeiro (von C. Darwin gesammelt); auf *Pachyteles* spp., Pariser Mus., Südamerika, Hope Coll., Brasilien. An der Basis der Hinterbeine.
- L. *denticulata* n. sp. auf *Dineutes?* Brit. Mus., Adelaide River, Australien.
- L. *Dineutis* n. sp. auf *Dineutes subspinosus* Klug., Paris, Madagascar und Isle de France, Hope Coll., ohne Ortsangabe; auf *Dineutes* sp., Hope Coll., Bengalien, Asien, Ceylon, Mauritius; auf *Dineutes*, Brit. Mus., Nilyiri Hills, Indien. Flügelrand und Hinterleibsende.
- L. *Dercyli* n. sp. auf *Dercylus tenebriosus* Laf., Hope Coll., Para, Brit. Mus., Südamerika. Flügelrand.
- L. *distincta* n. sp. auf *Pericallus caeruleovirens* Tat., Brit. Mus. Singapore. Flügeldeckenwand.
- L. *drepanalis* n. sp. auf *Gyretes acutangulus* Sharp., Brit. Mus. Bugaba, Panama; auf *Gyretes* sp., Brit. Mus. Amazonenstrom. Flügeldecken.
- L. *Egae* n. sp. auf *Ega*, Pariser Mus. Acapulco, Mexiko; auf *Ega Sallei*, Brit. Mus. Biologia Coll., Paso Antonio und Champerico, Guatemala. Flügeldecken.
- L. *aequatorialis* n. sp. auf *Casnonia* sp., Brit. Mus. Amazonenstrom. Oberseite des Prothorax, Flügeldecken und Beine.
- L. *erecta* n. sp. auf *Colpodes agilis* Chd., Jalapa, Mexiko, Brit. Mus.; auf *C. evanescens* Bates, N. S. National Mus., Biol. Coll., Mexiko. Auf den Flügeldecken.
- L. *falcata* n. sp. auf *Casnonia* sp., Pariser Mus. Bahia, Brasilien. Basis der Flügeldecken und Oberseite des Prothorax.
- L. *fallax* n. sp. auf *Gyretes acutangulus* Sharp., Brit. Mus. Bugaba, Panama; auf *Gyretes* sp., Brit. Mus., Amazonenstrom; auf *Gyretes* sp., Hope Coll., Rio de Janeiro. An den Flügelspitzen.
- L. *finitima* n. sp. auf *Pericallus guttatus* Chev., Pariser Mus., Brit. Mus., Java; auf *P. caeruleovirens* Tat., Brit. Mus., Singapore. An den Beinen.
- L. *fissa* n. sp. auf *Pericallus guttatus* Chev., Pariser Mus., Brit. Mus., Hope Coll., Java; auf *P. flavoguttulus* Dej., Ostindien Flügeldecken.
- L. *forficulata* n. sp. auf *Thyreopterus striatus* Gner., Hope Coll., Madagaskar. Auf den Flügeldecken.
- L. *geniculata* n. sp. auf *Galerita* sp., Pariser Mus., Rosario, Argentinische Republik. An der linken Seite des unteren Prothorax.
- L. *gibbifera* n. sp. auf *Dercylus tenebriosus* Laf., Hope Coll., Para, Brit. Mus., Südamerika. Unterseite des Thorax und Prothorax. Vielleicht Varietät von *L. Dercyli*.
- L. *heterocheila* n. sp. auf *Dineutes?* sp., Brit. Mus., Timor, Ostindien. Flügeldecken.

- L. imitans* n. sp. auf *Nycteis* sp., Pariser Mus., Madagaskar. An Beinen, Flügeldecken und Abdomen.
- L. insularis* n. sp. auf *Bembidium sublimatum* Woll. und *B. Grayanum* Woll., Brit. Mus., St. Helena.
- L. intermedia* n. sp. auf *Anisodactylus triinspidatus* A. Mor., Paris. Mus., Mon-Pin (China?). Flügelrand.
- L. Italica* n. sp. auf *Brachinus explodens* Duft, Florenz.
- L. Javana* n. sp. auf *Pericallus cicindeloides* Mac Leary, Pariser Mus., Tongon, Java. Unterseite des Thorax.
- L. leucophaea* n. sp. auf *Serrimargo guttiger* Schaum., Hope Coll., Sumatra. Flügeldecken und am Grunde der Beine.
- L. Loxandri* n. sp. auf *Loxandrus unistigma* Bates, Brit. Mus., Paso Antonio, Guatemala. Flügeldecken.
- L. maculata* n. sp. auf *Serrimargo guttiger* Schaum., Brit. Mus., Penang, Ostindien. Vorderbeine.
- L. madagascarenensis* n. sp. auf *Harpalus?* Pariser Mus., Madagaskar. Ränder der Flügeldecken.
- L. Madeirae* n. sp. auf *Calathus complanatus* Dej., Pariser Mus., Madeira. Flügeldecken.
- L. malayensis* n. sp. auf *Pericallus coeruleovireus* Tat., Singapore. Basis der Hinterbeine.
- L. melanaria* n. sp. auf *Diachromus germanus* L., Florenz, Hope Coll., Frankreich, Portugal; auf *Anisodactylus militaris*, Sardinien; auf *A. heros* Fabr., Europa.
- L. melanopus* n. sp. auf Carabiden, Pariser Mus., Afrika. Hinterleibsende.
- L. microscopica* n. sp. auf *Pelmatellus nitens* Bates, Brit. Mus. Flügeldecken.
- L. microsoma* n. sp. auf *Serrimargo guttiger* Schaum., Brit. Mus., Penang, Ostindien. Basis der Hinterbeine.
- L. minimalis* n. sp. auf *Galerita* sp., Pariser Mus., Venezuela. Flügelmitte.
- L. misceli* n. sp. auf *Miscelus* sp., Pariser Mus., Molukken. Basis der Hinterbeine.
- L. obtusa* n. sp. auf *Acrogenidion Bedelis* Tsch., Pariser Mus., Mon-Pin (China?). Rand des Prothorax.
- L. Oedodactyli* n. sp. auf *Oedodactylus fuscobrunneus*, Brit. Mus., Chili. Flügeldecken.
- L. Oopteri* n. sp. auf *Oopterus rotundicollis* White, Brit. Mus., Neuseeland. Flügeldecken.
- L. Ophoni* n. sp. auf *Ophorus obscurus* Fabr., *O. brevicollis* Dej., *O. azureus* Fabr., *Harpalus neglectus* Dej., *H. serripes* Quensel, *H. sulphuripes* Germ. *H. tardus* Panz. im Florentiner Mus. italienischer Coleopteren; auf *Ophonus* sp., Interlaken, Schweiz; auf *Ophonus* sp., Pariser Mus., Algier. Auf Flügeldecken, unterem Thorax, Prothorax und Abdomen.
- L. Orectochili* n. sp. auf *Orectochilus cordatae* Rey., Paris, Asien, Flügeldecken.
- L. orientalis* n. sp. auf *Brachinus Chinensis* Chaud., Pariser Mus., Manila, Philippinen; Macao, China; Brit. Mus., China; Hope Coll., China; auf *Brachinus* sp., Brit. Mus., China und Philippinen. Unterseite des Thorax und Prothorax.
- L. Orthomi* n. sp. auf *Orthomus aquilus* Cognér, Algier? Pariser Mus. Rand der Flügeldecken.
- L. papuana* n. sp. auf *Morio* sp., Pariser Mus., Neu Guinea. Unterseite des Thorax.
- L. Pericalli* n. sp. auf *Pericallus guttatus* Chev., Pariser Mus., Java; auf *Miscelus* sp. Pariser Mus., Neu Guinea.
- L. platystoma* n. sp. auf *Catoscopus* sp., Pariser Mus., Neu Guinea. Unterseite.
- L. Polyhirmae* n. sp. auf *Polyhirma* sp., Pariser Mus., Tanger, Algier. Unterseite des Abdomens und Thorax, besonders zwischen der Basis der Hinterbeine.

- L. prominens* n. sp. auf *Pericallus guttatus* Chev., Brit. Mus., Java. Füße.
- L. protrudens* n. sp. auf *Pericallus cicindeloides* Mac Leary, Pariser Mus., Tongon, Java, Flügelmitte.
- L. Pseudomasci* n. sp. auf *Pseudomascus nigrita* Fab., Pariser Mus., Mongolei. Oberer und unterer Rand des Prothorax, linke Seite.
- L. punctata* n. sp. auf *Galerita* sp., Pariser Mus., Venezuela. Kopf.
- L. punctulata* n. sp. auf *Pachyteles parallelus* Chaud., Brit. Mus., Para; auf *P. porrectus* Chaud., Brit. Mus., Panta bon Guatemala. Füße.
- L. pygmaea* n. sp. auf *Trichognathus* sp., Pariser Mus., Venezuela; *T. marginatus*, Brit. Mus., Brasilien; *T. marginipumis* Latr., Brit. Mus., Tamay, Südamerika; *Galerita occidentalis* Oliv., Brit. Mus., Bolivia; *Galerita* sp., Hope Coll., Bahia, Brasilien. An allen Körperteilen.
- L. rhinophora* n. sp., auf *Brachinus* sp., Hope Coll., Madagaskar. Füße.
- L. rostellata* n. sp. auf *Brachinus lateralis* Dej., Hope Coll., Nordamerika; auf *Brachinus* sp., Eustis, Florida. Basis der Vorderbeine.
- L. separata* n. sp. auf *Pericallus guttatus* Chev., Brit. Mus., Java. Flügelränder.
- L. Serrimarginis* n. sp. auf *Serrimargo guttiger* Schaum., Brit. Mus., Penang, Ostindien. Basis der Vorderbeine.
- L. speciosa* n. sp. auf *Galerita unicolor* Dej., Brit. Mus., Brasilien. Unterfläche des Prothorax.
- L. spiralis* n. sp. auf *Hexagonia* sp.? Hope Coll., Ceylon.
- L. strangulata* n. sp. auf *Orectochilus*? Brit. Mus., Timor, Ostindien. Flügelrand.
- L. subconstricta* n. sp. auf *Catoscopus* sp., Pariser Mus., Neu Guinea. Rechte Seite des vorderen unteren Thoraxrandes.
- L. Sumatrae* n. sp. auf *Catoscopus capripennis* Thon., Hope Coll., Borneo, Sumatra. Basis der Vorderbeine.
- L. Taenodemae* n. sp. auf *Taenodema* sp., Brit. Mus., Ega, Amazonenstrom. Flügeldecken und oberer Prothorax.
- L. tenuis* n. sp. auf *Miscelus Javanus* Klug., Hope Coll., Java; *Miscelus* sp., Pariser Mus., Neu Guinea; *Catoscopus*? Brit. Mus., Assam, Indien. Flügeldecken und Unterseite.
- L. Thyreopteri* n. sp. auf *Thyreopterus flavosignatus* Dej., Brit. Mus., Port Natal, Afrika; *Th.* sp., Pariser Mus., Afrika. Flügeldecken.
- L. tibialis* n. sp. auf *Brachinus* sp., Eustis, Florida. Beine.
- L. tortuosa* n. sp. auf *Pachyteles testaceus* Horn, U. S. National Mus., Arizona. Unterer Rand des Thorax und Prothorax, linke Seite.
- L. Trichognathi* n. sp. auf *Trichognathus marginipennis* Latr., Hope Coll., Columbia; Brit. Mus., Tamaz. Südamerika; *T. marginatus* Latr., Brit. Mus., Brasilien; Hope Coll., Südamerika; *T.* sp., Pariser Mus., Venezuela, Südamerika. An allen Körperteilen.
- L. triordinata* n. sp. auf *Calophaena bifasciata* Oliv., Brit. Mus., Südamerika; *Calophaena* sp., Brit. Mus., Nanta, Amazonenstrom; auf *Cordistes bicinctus* Dej., Hope Coll., Columbia; auf *Cordistes*? sp., U. S. National Mus., Centralamerika; auf *Helluomorpha melanaria* Reich., Brit. Mus., Ega, Amazonenstrom.
- L. tuberculifera* n. sp. auf *Serrimargo guttiger* Schaum., Penang, Ostindien, Brit. Mus. Basis der Flügeldecken.
- L. uncinata* n. sp. auf *Harpalus aeneus* Fabr., Selenga, Sibirien, Pariser Mus. Basis der Vorderbeine.
- L. verrucosa* n. sp. *Platynus*? Hope Coll. und U. S. Nat. Mus.; *Coffee Liberia*, Afrika. Flügeldecken.

II.

- Dimorphomyces Myrmedoniae* n. sp. auf *Myrmedonia flavicornis* Fauv., Brit. Mus., Guatemala.
- D. Thleophorae* n. sp. auf *Thleophora corticalis* Gz., Pariser Mus., Santa Anna, Madeira. Unterseite des Hinterleibes.
- Dimeromyces pinnatus* n. sp. auf *Ardistomis* sp., Hope Coll., wahrscheinlich Mexiko. Basis der Flügeldecken und Beine.

- D. *nanomasculus* n. sp. auf *Ardistomis viridis* Say., Coconut Grove, Florida; auf *A. educta* Bates, Brit. Mus.
- Monolcomyces** n. gen. Receptacle consisting of a basal and subbasal cell, above which it terminates in a small two called sterile portion, the terminal cell of which mayor may not be in the form of a short appendage; the subbasal cell giving rise to from one to several fertile branches, the habit becoming thus unilateral, bilateral or subverticillate in different species. The fertile branches consisting of from one to several cells in different species, the terminal cell of each branch normally giving rise to a stalked perithecium and a stalked antheridium; the remaindes, if there are more than one, appendiculate on the upper side, rarely (abnormally?) producing an additional antheridium. Antheridium of the compound type, consisting of a stalk composed of a pair of cells, the antheridium proper consisting of certain basal cells, two tiers of peripheral cells, which surround (not on all sides?) numerous antheridial cells and a cavity above them, and three or four terminal cells, which appear to surround an opening through which the antherozoids are discharged, and which subsequently grow upward, forming terminal simple appendages of irregular length.
- M. *Homalotae* n. sp. auf *Homalota putrescens* Woll., Brit. Mus., Azoren. Unterseite des Abdomens.
- M. *britannicus* n. sp. auf *Homalota insecta* Thom., Brit. Mus., Hammer-smith, England. Oberseite des Abdomens.
- M. *St. Helenae* n. sp. auf *Oxytelus alutaceifrons* Woll., Brit. Mus., St. Helena. Abdomen und Flügeldecken.
- M. *invisibilis* n. sp. auf *Homalota putrescens*, Brit. Mus., Azoren.
- Polyascomyces** n. gen. Receptacle consisting of two superposed cells, the upper bearing a perithecium laterally and a appendage terminally. Appendage consisting of a series of superposed flattened cells, surmounted by a dome shaped portion which is not persistent (a compound antheridium?). Perithecium with a distinct stalk-cell and well developed basal cells, the supporting cell and the lower wall cells forming a broad base the upper surface of which forms a broad ascigerous area, the asci arising from great numbers of ascigerous cells. It has not been possible from the material available to determine the exact nature of the antheridium in this remarkable genus. The terminal dome shaped portion of the appendage appears to consist originally of several cells, but whether it constitutes the whole of the antheridium or whether the latter is represented in part or wholly by the curious cells below it, was not shown by the material. The multiplication of ascigerous cells of which there are not less and probably more than thirty-six, distinguishes it from all other known genera.
- P. *Trichophyae* n. sp. auf *Trichophya pilicornis* Gyll., Brit. Mus., Farnham, England. Oberseite des Abdomens.
- Cantharomyces Platystethi* n. sp. am Hinterleibe von *Platystethus cornutus* Grav., Brit. Mus., Kilburn, England.
- Eucantharomyces Diaphori* n. sp. auf *Diaphorus tenuicornis* Chaud., Brit. Mus., Ooxaca, Mexiko. Flügelmitte.
- Eu. spinosus* n. sp. auf *Drypta* sp., Pariser Mus., Java. Flügeldecke.
- Eu. Euprocti* n. sp. auf *Euproctus quadrinus* Bates, Brit. Mus., Vukar de Chiriqui, Panama.
- Eu. Casnoniae* n. sp. auf *Casnonia subdistincta* Chaud., Brit. Mus., Cordova, Mexiko.
- Eu. Callidae* n. sp. auf *Callida* sp., Pariser Mus., Venezuela.
- Eu. africanus* n. sp. auf *Callida Natalensis*, Hope, Hope Coll., Natal, Afrika; auf *Callida* sp., Brit. Mus., Angola, Afrika. Flügeldecke.
- Eu. Catascopi* n. sp. auf *Catascopus* sp., Pariser Mus., Molukken. Rand der rechten Flügeldecke.
- Dichomyces javanus* n. sp. auf *Philonthus* sp., Brit. Mus. Abdomen.
- D. *exilis* n. sp. auf *Philonthus xanthomerus* Kraatz, Brit. Mus., San Andres, Vera Cruz. Antennen und Analanhänge.
- D. *angolensis* n. sp. auf *Philonthus* sp., Brit. Mus., Angola, Afrika. Flügeldecken.
- D. *insignis* n. sp. auf einem Staphylinden, Sawarak, Borneo, Hope Coll.

- D. biformis* n. sp. auf *Philonthus* sp., Niagarafälle, New York; auf *Ph. umbratilis* Grav., Brit. Mus., Leicester, England, Pariser Mus., Brit. Mus., Madeira; Pariser Mus., St. Pierre et Miquelon.
- D. hybridus* n. sp. mit beiden Typen von Peritheciiden auf *Philonthus aeneipennis* Boh., Pariser Mus., Golf von Oman, Indien; auf *Philonthus* sp., Brit. Mus., Sylhet, Assam, Indien; *Philonthus* sp., Brit. Mus., Hongkong, China. Mit einer Art Peritheciiden: *Philonthus ventralis* Grav., Brit. Mus., Ealmy, England; Pariser Mus., Funchal, Madeira; Brit. Mus., Europa; *Phil. sp.*, Brit. Mus., Balthazar, Grenada, Westindien, China; *Phil. proximus* Woll., Brit. Mus., Canaren; *Phil. gemellus* Kr., Brit. Mus., Ceylon; *Phil. sp.*, Niagarafälle.
- D. madagascarensis* n. s. auf *Philonthus Sikorae*, Pariser Mus., Tananarivo, Madagaskar. Abdomen.
- D. vulgatus* n. sp. auf *Philonthus flavolimbatu*s Erichs., Panama, Brit. Mus.; *Phil. parvimanus* Sharp., Chontales, Nicaragua, Brit. Mus.; *Ph. sp.*, Mt. Gay, Ostgrenada, Westindien; *Ph. sabalarius* Nord., Brit. Mus., Madeira; *P. longicornis* Steph., Brit. Mus., St. Helena; *P. cruentatus* Gmel., Brit. Mus., Europa; *Ph. varians* Pack, Brit. Mus., Ealing, England; *P. dimidiatus* Er., Brit. Mus., Nothing Hill, England. Am Abdomen. Eine anscheinend hierher gehörige Form auf *Philonthus*, Brit. Mus., Hongkong.
- D. Cafianus* n. sp. auf *Cafius puncticeps* White, Brit. Mus., Colenso, Südafrika.
- D. dubius* n. sp. auf *Philonthus* n. sp., Niagarafälle, New York. An allen Körperteilen. Vielleicht Varietät von *D. princeps*.
- D. peruvianus* n. sp. auf *Brachyderus simplex* Sharp., Peru. Flügeldecken und Hinterleib.
- Peyritschiella Amazonica* n. sp. an einem unbestimmten Staphyliniden, Brit. Mus., Nanta, Amazonenstrom.
- P. protea* n. sp. auf *Bledius bicornis* Germ., Brit. Mus., Europa; auf *Oxytelus rugosus* Fab., Brit. Mus., Hampstead, England; auf *Acrognathus mandibularis* Gyll., Brit. Mus., England. Auf Beinen, Flügeldecken, Prothorax.
- Limnalomyces** n. gen. Receptacle consisting of two portions, a basal part below perithecium and a distal part united to its posterior margin; the basal portion consisting of a single basal cell, surmounted by two tiers of cells (somewhat as in *Peyritschiella*), the anterior cell of the upper tier giving rise to a compound antheridium in structure similar to that of *Peyritschiella*: the distal (marginal) portion consisting of an inner and an outer elongated cell, the inner terminating on one of the bell-shaped appendiculate cells characteristic of *Chitonomyces*, separated from the simple appendage by a broad, constricted, blackened septum; the outer by successive subterminal external proliferations forming a series of cells from which a smaller secondary appendiculate cell is separated above, the whole corresponding in development to the external portions of the tiers of cells in *Dichomyces*, the proliferation taking place to the right and left successively, so that the appendages appear to arise in two rows.
- A clearly defined genus apparently intermediale between *Peyritschiella* and *Chitonomyces*.
- L. Tropisterni* n. sp. auf *Tropisternus* sp., Pariser Mus., Mexiko. Hinterleibsende.
- L. Hydrocharis* n. sp. auf *Hydrocharis obtusatus* Say, Cutts, Island, Kittary Point, Maine. Hinterleibsende.
- Chitonomyces floridanus* n. sp. auf *Cnemidotus 12-punctatus* Say, Eustis, Florida. Beine und Flügel.
- Ch. aethiopicus* n. sp. auf *Orectochilus specularis* Aubé, Pariser Mus., Goldküste, Afrika. Flügeldecken.
- Amorphomyces obliqueseptata* n. sp. an den Antennen eines unbestimmten Staphyliniden, Brit. Mus., Ega, Amazonenstrom.
- Teratomyces vulgaris* n. sp. auf *Quedius fulgidus* Fabr., Kiel, Deutschland; auf *Q. fuliginosus* Grav., Brit. Mus., Europa; *Q. truncicolus* Fair. (= *ventrales* Arag.), Br. Mus., Großbritannien; *Q. cruentus* Oliv.

- Brit. Mus., Europa; Qu. sp., Brit. Mus. Europa, Canada; Qu. fulgidus Fabr., Hope Coll., Europa; auf Philonthus? sp., Brit. Mus., Ungarn.
- T. Philonthi n. sp. auf Philonthus sp., Brit. Mus., Ungarn.
- Corethromyces brasilianus n. sp. auf Cryptobium Brasilianum Lec., Pariser Mus., Brasilien; auf C. fasciatum Erichs., Pariser Mus., Caracas, Venezuela; auf C. Flohri Sharp., Brit. Mus., City of Mexiko; auf C. venustum Sharp., Oaxaca, Mexiko; auf C. similipenne Say, Mexiko; auf Cryptobium sp., Brit. Mus., Colombia. An allen Körperteilen.
- C. purpurascens n. sp. auf Cryptobium capitatum, Pariser Mus., Brasilien; auf Cryptobium sp., Brit. Mus., Grenada, Westindien.
- Eucorethromyces** n. gen. General form as in Rhadinomyces, the receptacle consisting of two superposed cells, the upper giving rise to the perithecium and appendage. Perithecium as in Rhadinomyces, stalked. Appendage consisting of several superposed cells the distal one bearing terminally a series of branches which produce free flash shaped antheridia laterally, borne on short lateral branchlets or sessile.
- Eu. Apotomi n. sp. auf Apotomus xanthotelus Bates, Brit. Mus., Ce- lebes auf A. rufus Rossi, Brit. Mus., Europa. Flügeldecken.
- Rhizomyces crispatus n. sp. auf Diopsis sp., Brit. Mus., Natal, Afrika.
- Rhachomyces Philonthinus n. sp. auf Philonthus longicornis Steph., Brit. Mus., St. Helena; Philonthus sp., Hope Coll., Brit. Isles. Abdomen, Flügeldecken.
- Rh. velatus n. sp. auf Colpodes agilis Chaud., Brit. Mus. Jalapa, Mexiko; auf C. atratus Chaud., Brit. Mus., Irazu, Costa Rica; auf Gynandropus mexicanus Putz., Brit. Mus., Cordova, Mexiko. Meist an den Beinen.
- Rh. Thalpii n. sp. auf Thalpius rufulus Lec., Am. Mus. of Nat. Hist., Texas.
- Rh. Zuphii n. sp. auf Zuphium Mexicanum Chaud., Brit. Mus., Cordova, Mexico.
- Rh. canariensis n. sp. auf Trechus flavomarginatus Woll., Brit. Mus., Teneriffa. Flügeldecken.
- Rh. Cryptobianus n. sp. auf Cryptobium capitatum, Pariser Mus., Brasilien.
- Rh. tenuis n. sp., Carabidenspecies, Pariser Mus., Java.
- Rh. cayennensis n. sp. auf Cryptobium sp., Brit. Mus., Cayenne. Unterseite des Hinterleibes.
- Rh. stipitatus n. sp. auf Anophthalmus Radamanthus Lind., Hope Coll., Griechenland; auf A. Lespezi Fair., Pariser Mus., Grotte des Capucini, Seine et Garonne, Frankreich.
- Compsomyces Lestevi n. sp. auf Lesteva sicula Erich., Brit. Mus., Paisley und Red Hill, England. Abdomen und Flügeldecken.
- Clematomyces** n. gen. Receptacle consisting of a basal and a subbasal cell from which arises distally a main axis bearing a terminal perithecium and formed by a double row of cells; the cells of the external row producing sterile appendages, those of the inner producing either secondary axes similar in structure to the primary one, or antheridial branches; the secondary axes producing antheridial or sterile branches on both sides, and like the primary ones bearing a single terminal perithecium. The antheridia simple, borne as in Compsomyces, usually several from the distal ends of successive cells.
- Clematomyces Pinophili n. sp. auf Pinophilus sp., Brit. Mus., Burmah, Indien. Unterseite.
- Sphaleromyces obtusus n. sp. auf Lathrobium illyricum Dej., Brit. Mus., Algier. Oberseite des Hinterleibes.
- Sph. propinquus n. sp. auf Lathrobium sp., Brit. Mus., Europa. Oberseite des Hinterleibes.
- Sph. atropurpureus n. sp. auf Quedius graciliventris Sharp., Brit. Mus., Vulcan di Chiriqui, Panama; Qu. basiventris Sharp. ebendaher. Abdomen.
- Sph. Brachyderi n. sp. auf Brachyderus antennatus Sharp., Peru.

Misgomyces n. gen. Receptacle consisting of numerous cells superposed singly or in tiers of two to three cells each, terminating in a more or less irregularly cellular base bearing appendages singly or in groups. The solitary perithecium arising beside the appendages, the two situated in relation to one another as in *Laboulbenia*.

M. Dyschirii n. sp. auf *Dyschirius globosus* Herbst, Hope Coll., England; auf *D. salinus* Schaum., Brit. Mus., Europa.

M. Stomonaxi n. sp. auf *Stomonaxus striaticollis* Dej., Brit. Mus., China. An den Flügeldecken.

Ceratomyces floridanus n. sp. auf *Tropisternus glaber* Hb., Eustis, Florida. Flügelrand.

C. cladophorus n. sp. auf *Tropisternus nimbatus* Say, Eustis, Florida. Unterseite des Thorax, linke Seite.

C. denticulatus n. sp. auf einem Hydrophiliden, Pariser Mus., Mariannen. Unterseite und Beine.

C. elephantinus n. sp. auf *Hydrobius* sp.? Eustis, Florida. Beine.

C. rhynchophorus n. sp. auf *Phaenonotum estriatum* Say, Eustis, Florida.

C. reflexus n. sp. auf *Phaenonotum estriatum* Say, Eustis, Florida. Mit vorigem.

C. acuminatus n. sp. auf *Berosus* sp., Eustis, Florida. Unterseite des Abdomens und des Thorax.

C. californicus auf *Tropisternus dorsalis* Brullé, Kalifornien. Unterer Vorderwinkel des Prothorax.

C. ornithocephalus n. sp. auf *Berosus striatus* Say, Kittery Point, Main. Am rechten Flügelrand.

Euzoddiomyces n. gen. Receptacle elongate, multicellular; consisting of a large and indefinite number of cells superposed above the single basal cell and distally becoming divided by few or many longitudinal septa; the distal portion bearing a unilateral series of perithecia and appendages. Perithecia with from nine to ten wall cells in each row, borne on a three-celled stalk.

Closely allied to *Zodiomyces*.

Eu. Lathrobii n. sp. auf *Lathrobium punctatum* Zett., Brit. Mus., Nothing Hill, England; auf *L. multipunctatum* Grev., Brit. Mus., Europa; auf *L. filiforma* Grav., Brit. Mus., Nothing Hill, England.

Bemerkt sei noch, daß Verf. Duplikate der Präparate in Paris, London und Oxford niedergelegt hat, so daß die Mehrzahl der neuen Formen auch den Europäern, die sich mit der Familie beschäftigen wollen, zugänglich gemacht ist. Ludwig (Greiz).

Mollard, M., Sur quelques caractères histologiques des cécidies produites par l'*Heterodera radicolica* Greff. (Rev. gén. de bot. T. XII. 1900. p. 157—165.)

Als besonders charakteristisch für den abnormen Gewebebau der von *Heterodera radicolica* befallenen Wurzeln von *Cucumis sativa*, *Coleus* Verschaffelti und *Begonia Rex* beschreibt Verf. die im Centrum der Wurzeln gelegenen, unregelmäßig gestalteten „Riesenzellen“, deren jede bis 30 Kerne enthält. Auch die einzelnen Kerne selbst fallen durch abnorme Größe auf (bis 12 μ) und enthalten 1—4 Nukleolen. — Die Kernteilung erfolgt hier und da unregelmäßig und führt zur Bildung regellos gelappter Kerngebilde.

Die Riesenzellen sind mit Plasma reich gefüllt und dienen dem Parasiten als „Nährgewebe“. Küster (Halle a. S.)

Sauvageau, Camille, Influence d'un parasite sur la plante hospitalière. (Compt. rend. hebdomad. de l'acad. d. scienc. T. CXXX. Paris 1900. p. 343.)

Daß alle Sphacelariaceen sich bei Behandlung mit Eau de Javelle schwarz färben, hat Reinke schon beobachtet. Bei Untersuchung der parasitisch lebenden Arten *Sphacelaria hystrix* (auf *Cystoseira ericoides*), *Sph. furcigera* (auf *Cystoseira discor*) und *Sph. amphicarpa* n. sp. (auf *Halidrys siliquosa*) entdeckte der Verf., daß nicht nur die Zellen der Sphacelarien, sondern auch die ihnen benachbarten Gewebeteile der Wirtspflanze bei Behandlung mit Eau de Javelle die charakteristische Reaktion geben. Da Verf. aus verschiedenen Gründen es für unwahrscheinlich hält, daß der die Schwärzung bedingende Stoff von den Zellen des Parasiten ausgeschieden worden sei, nimmt er an, daß die Gewebe der Wirtspflanzen durch die Parasiten zur Erzeugung eines Stoffes gezwungen worden seien, der ihnen unter normalen Verhältnissen fremd bleibt, ähnlich wie die Knollen der Kartoffeln, auf welche Strasburger *Datura* pflanzte, Atropin bildeten. Küster (Halle a. S.).

Potel, H., Molestias cryptogamicas da batata ingleza e sui tractamento. (Boletim da Agricultura. Serie I. São Paulo 1900. No. 1. p. 45—48.)

Verf. führt als hauptsächlichste Krankheiten der Kartoffeln die folgenden an, deren Symptome, Urheber und Bekämpfung erörternd: Anthracnose durch *Vermicularia*, „Brunissure“ durch *Pseudocommis Vitis*, Chytridiose durch *Chrysophlyctis endobiotica*, Trockenfäule durch *Fusarium Solani*, „Early potato blight“ durch *Alternaria Solani*, Wurzelfäule durch *Entorhiza Solani*, Blatträude durch *Oospora scabies*, „pourridié“ durch *Rhizoctonia*, „ferrugem“ durch *Fusarium acuminatum*, „podrião cingenta“ durch *Botrytis cinerea*. Bakterienkrankheiten sind nach Verf. die Naßfäule durch *Clostridium butyricum*, Naßfäule der Stengel durch *Bacillus caulivorus* (Stengel und Blätter), Schorf durch *Bacillus subtilis*. Ludwig (Greiz).

D'Utra, G., Molestias vermiculares do cafeeiro. (Boletim da Agricultura. Serie I. São Paulo 1900. No. 1. p. 1—16.)

Verf. giebt ausführlichere Mitteilungen über Verbreitung der Nematodenkrankheit des Kaffees und unsere gegenwärtige Kenntnis über dieselbe. Ludwig (Greiz).

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Hollrung, M., Jahresbericht über die Neuerungen und Leistungen auf dem Gebiete des Pflanzenschutzes. Band II: Das Jahr 1899. 303 p. Berlin (Parey) 1900.

Schon die Vermehrung des II. Bandes des Jahresberichtes um etwa 7 Bogen gegenüber dem I. Bande deutet an, daß sich das Unternehmen in rüstig fortschreitender Entwicklung befindet. Es ist dies auch nicht zu verwundern, wächst ja doch die Litteratur des Pflanzenschutzes von Monat zu Monat sichtbar an! Außerdem mag aber an der vollkommeneren Ausgestaltung des vorliegenden Bandes das Interesse mit beigetragen haben, das der I. Band überall erweckte und das sich auch darin zu erkennen giebt, daß eine Reihe ausländischer Vertreter des Pflanzenschutzes sich bemüht haben, ihre Landeslitteratur zu vervollständigen.

So enthält der vorliegende Band nicht allein die Litteratur des Jahres 1899 in annähernder Vollständigkeit, sondern auch noch eine Anzahl Nachträge aus dem Jahre 1898. Die Anordnung ist mit einigen geringfügigen Abweichungen dieselbe geblieben und ist sicher auch für die Zukunft als praktisch anzuerkennen. Auf Einzelheiten kann hier nicht eingegangen werden, was ja auch um so weniger nötig ist, als der Jahresbericht für jeden, der sich mit Pflanzenschutz beschäftigt, unumgänglich notwendig ist.

Appel (Charlottenburg).

Schellenberg, H., Antioïd als Bekämpfungsmittel der *Peronospora*. (Schweizer Zeitschr. f. Obst- u. Weinbau. Jahrg. IX. No. 5. p. 65 u. 66.)

Unter dem Namen Antioïd kommt ein Pulver in den Handel, das verstäubt gegen *Peronospora* (nicht *Oïdium*) gut wirken soll. Nach der Analyse von Kelhofer in Wädensweil besteht dasselbe aus Kupfervitriol, Kalk und Gips. Schellenberg machte damit Versuche im Weinberge und fand, daß das Antioïd durchaus nicht genügend wirkt, was besonders im Vergleich mit Parzellen, die nach gewohnter Weise gespritzt waren, hervortrat. Auch bei der Ernte zeigte sich dieser Unterschied; die mit Antioïd behandelte Abteilung ergab einen Most von 60,5° Oechsle, die am gleichen Tage gelesene gespritzte Nachbarparzelle einen solchen von 66°. Von der Verwendung des Antioïd kann also nur abgeraten werden.

Appel (Charlottenburg).

Hertzog, A., Die Bekämpfung des Aeschers und der Blattfallkrankheit. (Landwirtschaftl. Zeitschr. f. Elsaß-Lothringen. 1900. No. 5 u. 7.)

Versuche, die Verf. mit Souheur'scher Fostitbrühe gegen *Peronospora* machte, fielen günstig aus; um *Oïdium* und

Peronospora gleichzeitig zu bekämpfen, wurde Kupferschwefelkalkpulver und Poudre Jullian angewendet, und zwar beide mit dem Erfolge, daß bei rechtzeitiger Anwendung mit diesen Pulvern beide Krankheiten gleichzeitig völlig ausreichend bekämpft werden können. Es ist dies unzweifelhaft dort von Vorteil, wo das Wasser zum Spritzen erst weiterher herbeigetragen werden muß.

Eine interessante Mitteilung macht Verf. bei dieser Gelegenheit über die Schnelligkeit, mit welcher das *Oidium* um sich greifen kann. Am 18. Juli wurden in einem Weinberge die ersten *Oidium*-Flecke entdeckt, doch war der Befall ein so schwacher, daß nichts davon befürchtet wurde. Trotzdem wurde Schwefeln angeordnet, das sich jedoch 5 Tage hinauszog. In dieser Zeit hatte das *Oidium* solche Fortschritte gemacht, daß die Ernte von etwa 300 Stöcken bereits als verloren gelten konnte!

Appel (Charlottenburg).

Näf, A., Die Feldmäuse und deren Bekämpfung mit Anwendung des Loeffler'schen Mäusebacillus. Im Zusammenhang mit den Erfahrungen im Kanton Aargau. Winterthur 1900.

Verf. hat verschiedene größere Gemeinden im Kanton Aargau veranlaßt, zur Bekämpfung der dort im Herbst 1899 massenhaft aufgetretenen Feldmäuse den Loeffler'schen Mäusebacillus anzuwenden. Die damit gemachten Erfahrungen waren äußerst günstige, auf allen Versuchsfeldern war schon nach kurzer Zeit ein Verschwinden der Feldmäuse wahrzunehmen. Der Loeffler'sche Bacillus wurde im bakteriologischen Laboratorium der landwirtschaftlichen Schule in Brugg in Reinkultur gezüchtet und von da meist in Form von frischen Bouillonkulturen (1 l-Kolben), seltener auf Agar an die verschiedenen Gemeinden abgegeben. An Ort und Stelle kamen die Kulturen genau nach der Loeffler'schen Methode zur Verwendung. Zu 50 l gekochtem Wasser, dem 0,5 Proz. Kochsalz zugesetzt war, wurde 1 l Bouillonkultur zugesetzt, gemischt, und mit dieser Flüssigkeit kleine Brotstückchen infiziert. Diese letzteren ließ Verf. in möglichst viele Gänge legen; diese Arbeit soll möglichst pünktlich ausgeführt werden, da sie nach Erfahrungen des Verf.'s von sehr wesentlichem Einfluß auf das Resultat ist. Eine schädliche Wirkung des Loeffler'schen Bacillus auf andere Tiere oder auf die Leute, die mit demselben in Berührung waren, konnte bei diesen Versuchen nie beobachtet werden.

Thomann (Bern).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. ARTHUR WÜRZBURG,
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den pathogenen Mikroorganismen, umfassend Bakterien, Pilze und Protozoën. Bearb. u. hrsg. von P. v. Baumgarten und F. Tangl. Jahrg. 15. 1899. 1. Hälfte. gr. 8°. 400 p. Leipzig (S. Hirzel) 1900. 10 M.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

- Conn, H. W.**, How can bacteria be satisfactorily preserved for museum specimens? (Journ. of the Boston soc. of med. scienc. Vol. V. 1901. No. 7. p. 389.)
- Deycke u. Voigtländer**, Studien über kulturelle Nährböden. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXIX. 1901. No. 15. p. 617—627.)
- Hanfland, F.**, Brutschrank mit elektrischer Heizung und Regulierung. (Ztschr. f. wissenschaft. Mikrosk. Bd. XVII. 1900. Heft 4. p. 440—442.)
- Harding, H. A.**, The utility of a supply of live steam in the laboratory. (Journ. of the Boston soc. of med. scienc. Vol. V. 1901. No. 7. p. 382—383.)
- Hartwich, C.**, Ueber ein neues Mikrometerokular für Mikroskope mit feststehendem Objektisch. (Ztschr. f. wissenschaft. Mikrosk. Bd. XVII. 1900. Heft 4. p. 432—435.)
- Hoffmann, E. W.**, Ueber das Orientieren und Schneiden mikroskopisch kleiner, undurchsichtiger und dotterreicher Objekte. (Ztschr. f. wissenschaft. Mikrosk. Bd. XVII. 1900. Heft 4. p. 443—448.)
- Lutz, L.**, Bougie-pipette pour stérilisation et répartition directe des liquides. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1901. No. 14. p. 404—406.)
- Park, W. H.**, The use of paraffin to exclude oxygen in growing anaerobic bacteria. (Journ. of the Boston soc. of med. scienc. Vol. V. 1901. No. 7. p. 373.)
- Robin, A.**, Preservation of sputum for microscopic examination. — A new fermentation tube. — Simple device for distributing equal quantities of culture media. (Journ. of the Boston soc. of med. scienc. Vol. V. 1901. No. 7. p. 379—380.)
- Rätköka, St.**, Zwei kleinere methodische Mitteilungen. Ein Beitrag zur Anaërobenzüchtung. — Schnelle Filtration des Nährgases. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXIX. 1901. No. 16. p. 672—673.)
- Starlinger, J.**, Das neue Reichert'sche Schlittenmikrotom zum Schneiden unter Wasser. (Ztschr. f. wissenschaft. Mikrosk. Bd. XVII. 1900. Heft 4. p. 435—440.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

- Ariola, V.**, Nota sui cestodi del *Centrolophus pompilus* (Sunto). (Monit. zoolog. ital. 1900. Suppl. p. 14—15.)
- Bodin, E. et Lenormand, C.**, Note sur la production de caséase par un streptothrix parasite. (Annal. de l'Inst. Pasteur. 1901. No. 4. p. 279—288.)
- Bokorny, Th.**, Einige Beobachtungen über die Vergärung von Diglykosen und einfachen Glykosen. (Allg. Brauer- u. Hopfen-Ztg. 1901. No. 81. p. 941.)
- Braun, M.**, Zur Revision der Trematoden der Vögel. I. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXIX. 1901. No. 13. p. 560—568.)
- Davis, N. G.**, Variation of *bacillus rosaceus metalloides* (Dowdeswell). (Journ. of the Boston soc. of med. scienc. Vol. V. 1901. No. 7. p. 384—385.)
- Grimbert, L.**, Production d'acétylméthylcarbinol par le *Bacillus tartricus*. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1901. No. 11. p. 304—306.)
- Howard, L. O.**, On some diptera bred from cow-manure. (Canad. entomologist. 1901. No. 2. p. 42—44.)
- Ide, M.**, Ueber Antikörper gegen chemisch reine Eiweißstoffe. (Fortschr. d. Med. 1901. No. 12. p. 234.)
- Jahn, E.**, Myxomycetenstudien. (Ber. d. dtsh. botan. Ges. 1901. Heft 2. p. 97—115.)

- de Joannis, J.**, Note sur une Phycide (*Metocis vorax* n. sp.) vivant en parasite dans un nid de chenilles provenant de Mayomba (Congo). [*Dasychira Goodi* Holland.] (Bullet. d. Mus. d'hist. nat. de Paris. 1900. No. 6. p. 280—283.)
- Künckel d'Herculeis, J.**, Le grand acridien migrateur américain (*Schistocerca americana* Drury): migrations et aire de distribution géographique. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXII. 1901. No. 12. p. 802—805.)
- Laveran**, Contribution à l'étude de *Piroplasma equi*. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1901. No. 14. p. 385—388.)
- Leonardi, G.**, Sistema delle „Parlatoriae“. Nota preventiva. (Riv. di patol. vegetale. Vol. VIII. 1899/1900. No. 7/12. p. 203—209.)
- , Una nuova specie di *Trombidium* (*T. debilipes*), parassita allo stato larvale, del *Pachytillus migratorius* L. (Ibid. p. 367—369.)
- Looss, A.**, Ueber die Faciolidengenera *Stephanochasmus*, *Acanthochasmus* und einige andere. (Centralbl. f. Bakteriologie. I. Abt. Bd. XXIX. 1901. No. 14—16. p. 595—606, 628—634, 654—661.)
- Mayr, G.**, Der Erzeuger der Sodoms-Aepfel. (Wien. entomol. Ztg. 1901. Heft 4. p. 65—68.)
- Mrásek, A.**, Ueber das Verhalten der Längsnerven bei *Abrothium rectangulum* (Bud.). (Centralbl. f. Bakteriologie. I. Abt. Bd. XXIX. 1901. No. 13. p. 569—571.)
- Nodolny**, Gärverfahren mit mechanischer Botstichkühlung. (Ztschr. f. Spiritusindustrie. 1901. No. 17. p. 168.)
- Oppenheimer, C.**, Zur Theorie der Fermentprocesse. (Münch. med. Wochenschr. 1901. No. 16. p. 624—627.)
- Pakes, W. Ch. C. and Jollyman, W. H.**, The bacterial oxidation of formates by nitrates. (Journ. of the chem. soc. 1901. April. p. 459—461.)
- Perrone, E.**, Sui costumi delle larve delle zanzare del genere *Anopheles* in relazione con le bonifiche idrauliche. (Annali d'igiene sperim. 1901. Fasc. 1. p. 1—24.)
- Prowazek, S.**, Notizen über Protozoen. (Zoolog. Anzeiger. 1901. No. 642. p. 250—252.)
- Reichenbach, H.**, Ueber Verzweigung bei Spirillen. (Centralbl. f. Bakteriologie. I. Abt. Bd. XXIX. 1901. No. 13. p. 553—557.)
- Ribaga, C.**, Osservazioni sull' anatomia del *Trichopsocus Dalii* M'Lachl. Nota prevent. (Riv. di patol. vegetale. Vol. VIII. 1899/1900. No. 7/12. p. 370—374.)
- , Contributo alla conoscenza dei Psocidi italiani. (Ibid. p. 375—386.)
- Rossi, L.** fermentazioni. 8°. Roma (Soc. ed. Dante Alighieri) 1901. 7 l.
- Smith, E. F.**, Growth of bacteria in the presence of chloroform and thymol. (Journ. of the Boston soc. of med. science. Vol. V. 1901. No. 7. p. 375.)
- Welch, W. H.**, Distribution of bacillus aerogenes capsulatus (*Bacillus Welchi*, Migula). (Journ. of the Boston soc. of med. scienc. Vol. V. 1901. No. 7. p. 369—370.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft und Wasser.

- Copeland, W. E.**, The use of carbolic acid in isolating the bacillus coli communis from river water. (Journ. of the Boston soc. of med. scienc. Vol. V. 1901. No. 7. p. 381—382.)
- Eschenhagen**, Ueber die Gefährlichkeit des Staubes. (Verhandl. u. Mitt. d. Ver. f. ö. Gesundheitspf. in Magdeburg. 1901. Heft 26/27. p. 140—143.)
- Lindau, G., Schiemens, P., Marsson, M., Elsner, M., Proskauer, B. und Thiesing, H.**, Hydrobiologische und hydrochemische Untersuchungen über die Vorflutersysteme der Bäke, Nuthen, Panke und Schwärze. (Viertelsschr. f. gerichtl. Med. u. öff. Sanitätswesen. 1901. Suppl. p. 61—218.)
- Salomon**, Ueber bakteriologische, chemische und physikalische Rheinwasser-Untersuchungen. (Viertelsschr. f. gerichtl. Med. u. öffentl. Sanitätswesen. 1901. Suppl. p. 25—60.)

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

- Delorme**, Note sur le lavage aseptique du linge. (Bullet. de l'acad. de méd. 1901. No. 15. p. 498—503.)

Fleisch.

- Holburn, A.**, Meat inspection. (Veterin. journ. 1901. Febr., April. p. 95—100, 214—221.)
- Massini, G.**, Manuale di polizia sanitaria ed ispezione delle carni da macello. gr. 8°. 706 p. Mortara (Vigevano) 1901.
- Rehardt, W.**, Ueber Konservierung von frischem Fleisch und über Fleischkonserven vom hygienischen und sanitätspolizeilichen Standpunkt aus. (Viertelsschr. f. gerichtl. Med. 1901. Heft 2. p. 321—355.)
- Schneidemühl, G.**, Die animalischen Nahrungsmittel. Ein Handbuch zu ihrer Untersuchung und Beurteilung für Tierärzte, Aerzte, Sanitätsbeamte, Richter und Nahrungsmittel-Untersuchungsämter. 3. Abt. gr. 8°. p. 385—576 m. Abbild. Wien (Urban & Schwarzenberg) 1901. 4,80 M.
- Zabala, J.**, De la inspección de carnes en el matadero de la capital. (Rev. veterin., Buenos Aires 1901. No. 96. p. 310—316.)

Milch, Molkerei.

- Michaelis, H.**, Neuere Untersuchungen über Sauermilchsterilisierung, Tuberkelbacillen in Marktbutter u. s. w. (Therap. Mth. 1901. Heft 4. p. 180—181.)
- Moldenhawer, J.**, Pasteurisierung i Amerika. (Maelkeritidende. 1901. No. 12. p. 189—194.)
- Park, W. H.**, The bacterial condition of city milk and the need of health authorities to prevent the sale of milk containing excessive numbers of bacteria. (Journ. of the Boston soc. of med. scienc. Vol. V. 1901. No. 7. p. 370—371.)
- Schütz, E.**, Untersuchung der säurefesten Pilze zur Förderung der Molkereiwirtschaft. (Landwirtschaftl. Jahrb. 1901. Heft 1/2. p. 223—257.)
- Tosi, E.**, Attività dell' Osservatorio di caseificio di Fagagna (Udine). (Bollett. di notiz. agrar. 1901. No. 7. p. 368—374.)
- Ward, A. E.**, Bacillus lactis viscosus; a cause of ropiness in milk and cream. (Journ. of the Boston soc. of med. scienc. Vol. V. 1901. No. 7. p. 386.)

Bier, Brauerei.

- Dennhardt, E.**, Der Endvergärungsgrad in Bierwürzen bei verschiedenen obergärigen, wilden und Mazunhefen. (Wechschr. f. Brauerei. 1901. No. 17. p. 225—229.)
- Schönfeld, F.**, Die Infektionsgefahren bei den kleineren, speciell obergärigen Brauereien. (Wechschr. f. Brauerei. 1901. No. 16. p. 213—214.)

Wein, Weinbereitung.

- Heinse, B.**, Einiges über die Krankheiten und Fehler beim Weine unter besonderer Berücksichtigung der Infektionskrankheiten desselben. (Hygien. Rundschau. 1901. No. 7, 8. p. 321—344, 377—395.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

- Dietrich, Th., Schulze, C. u. Gössel, F.**, Chemische und bakteriologische Untersuchung über die Wirkung eines Versuchs-Koksfilters auf das Spülwasser der städtischen Kläranlage zu Marburg a. d. Lahn. (Viertelsschr. f. gerichtl. Med. u. öffentl. Sanitätswesen. 1901. Suppl. p. 252—261.)
- Grawitz, E.**, Bemerkung zu dem Artikel von Mayer und Wolpert über „Wohnungsdesinfektion durch Formaldehyd“ in No. 4 dieser Ztschr. (Hygien. Rundschau. 1901. No. 8. p. 395—396.) — **Mayer, E. u. Wolpert, H.**, Zur Rolle der Lufttemperatur bei der Formaldehydesinfektion. Antwort auf vorstehende Reklamation. (Ibid. p. 396—400.)
- Pammel, L. H.**, Bacteria in the Ames sewage disposal plant. (Journ. of the Boston soc. of med. scienc. Vol. V. 1901. No. 7. p. 383—384.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

- Appel, O. u. Jacobi, A.**, Die Bekämpfung der Kaninchenplage. (Kaiserl. Gesundh.-A. Biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtsch. Flugblatt No. 7. gr. 8°. 3 p. Berlin (Parey-Springer) 1901. 0,05 M.
- Bubák, Fr.**, Ueber die Pilze der Rübenknäule. [Vorl. Mitt.] (Ztschr. f. d. landwirtschaftl. Versuchswesen in Oesterreich. 1901. Heft 4. p. 477—478.)
- Chief-Gamacchio, G.**, Nozioni popolari sulla fillossera della vite. 8°. 18 p. Ciriè (Tip. Vassallo) 1901.
- Cuboni, G.**, Attività della R. Stazione di patologia vegetale di Roma durante l'anno 1899. (Bollett. di notiz. agrar. 1901. No. 8. p. 398—404.)
- Hecke, L.**, Eine Bacteriosis des Kohlrabi. [Vorl. Mitt.] (Ztschr. f. d. landwirtschaftl. Versuchswesen in Oesterreich. 1901. Heft 4. p. 469—476.)
- Kirchner, O. u. Boltshanser, H.**, Atlas der Krankheiten und Beschädigungen unserer landwirtschaftlichen Kulturpflanzen. IV. Serie. Krankheiten und Beschädigungen der Gemüse- und Küchenpflanzen. 12 in feinstem Farbendr. ausgeführte Taf. m. kurzem erläut. Text. Lex.-8°. IV, 29 p. Stuttgart (Eugen Ulmer) 1901. 7 M.
- Lambillon, L. J.**, Maladie des ohènes causée par un champignon (*Rhizoctonia violacea* (Tul.) et un kermès (*Chermes variegatus* Latr.). Rapport sur un cas qui se présente dans les bois de Goyet. gr. 8°. 9 p. Bruxelles 1901.
- —, Rapport sur les ravages causés par la „*Porthesia Chrysoorrhoea* L.“ dans les arrondissements de Namur et de Dinant. gr. 8°. 4 p. Bruxelles 1901.
- Pierce, N. B.**, Peach leaf curl. Its nature and treatment. (U. S. Departm. of Agriculture. Div. of veget. physiol. and pathol. Bullet. No. 20.) gr. 8°. 204 p. Washington (Gov. print. Off.) 1900.
- Platania, G.**, Conversazione sulla peronospora e sui risultati della lotta nella primavera del 1900. 8°. 35 p. Acireale 1900.
- Selby, A. D.**, A condensed handbook of the diseases of cultivated plants in Ohio. (Bullet. of the Ohio agricult. experim. stat., Wooster. 1900. No. 121.) 8°. 69 p.
- Ward, H. M.**, Disease in plants. 8°. London (Macmillan & Co.) 1901. 7 sh. 6 d.

Inhalt.

Originalmittheilungen.

- Elliesen, Max**, Einfluß des Vegetationszustandes verschiedener Hefen auf ihr Vermehrungs- und Gärvermögen. (Orig.), p. 497.
- Gottheil, O.**, Botanische Beschreibung einiger Bodenbakterien. (Orig.) [Forts.], p. 481.

Referate.

- D'Utra, G.**, Molestias vermiculares do cafeeiro, p. 522.
- Molliard, M.**, Sur quelques caractères histologiques des cécidies produites par l'*Heterodera radicolica* Greff, p. 521.
- Potel, H.**, Molestias cryptogamicas da batata ingleza e sui tractamento, p. 522.
- Sauvageau, Camille**, Influence d'un parasite sur la plante hospitalière, p. 522.

Thaxter, Roland, Preliminary diagnoses of new species of Laboulbeniaceae. I, II, p. 513.

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

- Hertsog, A.**, Die Bekämpfung des Aeschers und der Blattfallkrankheit, p. 523.
- Höllrung, M.**, Jahresbericht über die Neuerungen und Leistungen auf dem Gebiete des Pflanzenschutzes. Band II: Das Jahr 1899, p. 523.
- Näf, A.**, Die Feldmäuse und deren Bekämpfung mit Anwendung des Loeffler'schen Mäusebacillus. Im Zusammenhang mit den Erfahrungen im Kanton Aargau, p. 524.
- Schellenberg, H.**, Antioïd als Bekämpfungsmittel der Peronospora, p. 523.

Neue Litteratur, p. 525.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Prof. Dr. J. Behrens in Weinsberg i. W.,
Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Dr. v. Freudenreich in Bern, Privatdocent
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Dr. G. Harris Morris
in London, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädenswil, Dr. Erwin F. Smith in
Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr.,
Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel
und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Berlin

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VII. Band.

Jena, den 12. Juli 1901.

No. 15.

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Botanische Beschreibung einiger Bodenbakterien.

**Beiträge zur Methode der Speciesbestimmung und Vorarbeit
für die Entscheidung der Frage nach der Bedeutung der Boden-
bakterien für die Landwirtschaft.**

Von Dr. O. Gotthell.

Mit 4 Tafeln.

(Fortsetzung.)

Entwicklungsgang von *Bacillus graveolens* auf
Dextroseagar. Die Sporen sind 1,39—1,7 μ breit, 1,9—2,5,
selten bis 2,9 μ lang; am häufigsten sind sie ellipsoidisch (Fig. A

a, b, c, h); es kommen solche mit und solche ohne Spitzen vor (Fig. A d, e, f, g, B). Die Sporenmembran ist meistens ohne Hilfe eines Reagens erkennbar, dieselbe ist meist deutlich in Exine und Intine gegliedert; nach Durchfärbung der Sporen mit etwas Fuchsin, Methylenblau- oder Safraninlösung treten die Konturen derselben noch besser hervor. Im optischen Querschnitt erscheinen die Sporen rund (Fig. C); sie schwellen vor der Keimung häufig nur relativ wenig an; auf der Agarfläche keimen sie nach ungefähr 5 bis 6 Stunden bei 28°. Vorherrschend findet man äquatoriale (Fig. D a, b, d, e, f, g, h), selten mehr polare Keimung (Fig. D c) und vereinzelt äquatoriales ringförmiges Aufreißen der Sporenmembran und, nach Streckung des Stäbchens, die Membran noch als Kappen an den Polen desselben festhaftend. Die Keimstäbchen sind meistens 1- bis 2-lang und ungefähr 1,39–1,5 μ breit. Sofort nach der Keimung schwärzten die Stäbchen nicht; erst nach kurzer Zeit der Ruhe begannen viele noch homogene, also fettfreie Stäbchen, in welchen mit Methylenblaulösung feine Vakuolen sichtbar wurden, sich lebhaft schlängelnd zu bewegen. Nach 7–8 Stunden findet man Einzel- und Doppelstäbchen, wie auch bis 8- und mehrstäbige Zellfäden, deren Stäbe meistens 2- bis 3-lang und 2- bis 3-zellig (Chlorzinkjod) sind (Fig. E, F, G, H). Nach 14–18 Stunden sind sowohl auf der Agarfläche, wie auch im Kondenswasser meistens äußerst lebhaft schwärmende Einzel- und Doppelstäbchen von normaler Dicke (ungefähr 1,39–1,5 μ), mit kleinen Fetttropfchen vorhanden. Die Stäbe sind kurz, vorherrschend 1-, seltener 2-lang (Fig. I a, b, c). Im Kondenswasser findet man noch viele fettfreie, homogene, 2-lange Stäbchen; von denen wenige zu bis 10-stäubigen Zellfäden zusammenhängen. Außerdem erkennt man auch lange dünnere, anormale, unseptierte Zellfäden (Chlorzinkjod) (Fig. L). Es sind charakteristischerweise fast keine 4- und mehrstäbige Zellfäden mit angeschwollenen Stäbchen entwickelt. Nach 20–24 Stunden findet man in der häutigen, marmorierten, glasigen Kolonie meistens normale 1- bis 2-lange, oft lebhaft schwärmende Einzel- und Doppelstäbchen (Fig. K a, b, c, d, g), selten etwas angeschwollene Stäbe (Fig. K e, f, l), und bis 14-stäubige Zellfäden. Die schmälere, jedoch normalen Stäbchen, welche in dieser 20–24-stündigen Kolonie vorkommen, sehen wir in Fig. K d, die kürzesten Stäbchen in Fig. K g dargestellt. In vielen Stäbchen sind bereits Sporen ausgebildet; es sind meistens Einzel- und Doppelsporangien vorhanden, die je einlang und noch teilweise mit kleinen Fetttropfchen angefüllt sind (Fig. K h, i, k, n, o, p, q); doch es kommen auch 2-lange Sporangien vor, also solche mit 2 ausgebildeten Sporen in einem Stäbchen (Chlorzinkjod) und auch aus 2 Sporangien bestehende Stäbchen. Die Formen der Sporangien sind, wie es aus den Fig. K h, i, k, n, o, p, q, M a, b, c hervorgeht, sehr variabel. Als besonders charakteristisch sind die etwas abgerundeten Sporangien zu betrachten, wie wir dieselben in den Fig. K i, k, q dargestellt sehen. Ich fand stets, speciell in der Nähe des Kondenswassers, viele Sporangien in lebhafter Schwärmthätigkeit. Viele Stäbchen sind in der Sporement-

wickelung begriffen, die Sporenvakuolen sind angelegt und das Fett seitlich von denselben abgeschoben (Fig K g, h), so daß sich dieses 24-stündige Material vorzüglich zur Untersuchung der Entwicklungsgeschichte der Sporen eignet. Nach 36—40 Stunden sind im oberen Teile der Agarkolonie freiliegende Sporen, Sporangien und Ruhestäbchen entwickelt. Die Sporen sind verschieden geformt, kugelig, oval und mehr oder weniger länglich. Außer Einzel- und Doppelsporangien und mehrstäbigen Zellfäden mit aus einlangen Sporangien bestehenden, oft schon fettfreien Stäbchen von meistens normaler Dicke findet man jetzt auch anormal gestaltete, verschieden lange, dünne und dickere Zellen (Fig. K m), dabei 2-, 4-, 6- und mehrstäbige Zellfäden mit angeschwollenen, oft abgerundeten Stäben, in welchen viel Fett angehäuft ist und häufig auch Sporen entwickelt sind. Im Kondenswasser finden wir normale 1- bis 2-lange Einzel- und Doppelstäbchen, von denen wenige noch schwärmen, wie auch wenige mehrstäbige Zellfäden, deren Stäbe etwas angeschwollen, aber noch stäbchenförmig sind, und wenige Sporangien. Nach ungefähr 3—4 Tagen sind außer normalen Ruhestäbchen, Sporangien und freiliegenden Sporen, viele Involutionsformen, Einzel-, Doppelstäbchen und bis 4-stäbige Zellfäden, deren Stäbe mehr oder weniger angeschwollen und abgerundet sind (Fig. M d, e, f, h) entwickelt.

An den nach Loeffler gefärbten Schwärmern erkennt man peritriche Begeißelung und zwar 3—5 Geißeln an jedem Stäbchen, deren Länge ungefähr gleich einem einlangen oder auch gleich dem $1\frac{1}{2}$ -fachen eines 2-langen Stäbchens ist (Fig. N, O, P).

Entwicklungsgang in Nährlösungen. Nach 14 Stunden bei 28° waren die Sporen von *Bacillus graveolens* in der Nährlösung V α (Asparagin 1,0, Rohrzucker 3,0, mineral. Lösung 100) gekeimt; es fand jedoch die Keimung, in einigen angesetzten Vergleichskulturen, nicht konstant nach ein und derselben Zeit statt. Bald nach der Keimung, wie auch nach 2, 3, 4 Tagen findet man viele lebhaft schwärmende Einzel- und Doppelstäbchen und bis 4-stäbige Zellfäden, die Stäbe sind meist kurz 1- bis 2-lang und haben viele kleine Fetttropfchen gespeichert. Nach 5 bis 6 Tagen hatte sich bei ruhigem Stehen des Reagensglases eine dünne Kahmhaut entwickelt; die Lösung war trübe, schwach flockig, es waren Einzelschwärmer, Ruhestäbchen und viele Sporangien mit endständigen Sporen vorhanden. Die Sporangien kommen vor einzeln, wie auch in mehrstäbigen Zellfäden, mit aus 1-langen, etwas abgerundeten Sporangien bestehenden Stäbchen. Nach mehreren Wochen ist die Lösung stark trübe, schleimig. In einer Lösung, welche ich öfters umgeschüttelt hatte, und in welcher ich es dadurch nicht zur Kahmhautbildung kommen ließ, waren selbst nach 3 Wochen noch keine Sporen entwickelt.

Kurz erwähnt sei noch die Entwicklung in Nährlösung X. Die Entwicklung geht langsam von statten. Nach Impfen mit 14-stündigem Stäbchenmaterial von einer Agarkolonie und nach 7-tägiger Entwicklung der Lösung bei 28° ist letztere nach dem Umschütteln trübe, milchig-weiß. Man findet stets vorherrschend Einzel- und Doppelstäbchen, welche meist lebhaft schwärmten (Fig. S a, c, d, e, f, g),

selten mehrstäbige Zellfäden. Außerdem findet man Involutionsformen wie z. B. Fig. S b, h.

Wachstum in den verschiedenen Nährlösungen. Nach 4-wöchentlicher Entwicklung bei 28°: Nährlösung 0. Starke Entwicklung, Lösung dick, flockig. Normale Einzel- und Doppelstäbchen. Sporenbildung. I und I + Marmor. Sehr starke Entwicklung, Sporen gebildet. Viele Involutionsformen; dicke Kahmhaut. II. Starke, aber ungesunde Entwicklung. III. Entwicklung äußerst schwach, keine Schwärmer. Involutionsformen. IV. Keine Entwicklung. V. Lösung etwas schleimig. Entwicklung nicht sehr stark. Schwärmer. V α . Lösung dick, trübe, schleimig, sehr starke Entwicklung. V β . Erst 14 Tage lang keine, dann schwache, ungesunde Entwicklung; Lösung trübe. V γ . Schwache Entwicklung, Lösung trübe, wenige normale Ruhestäbchen, meistens Sporen. V δ . Schwache Entwicklung, Lösung trübe; meist abgestorbene Stäbchen. VI. Entwicklung, Lösung trübe, flockig, angeschwollene abgerundete Stäbchen. VII. Entwicklung schwach, Lösung trübe, flockig, meist Involutionsformen. VIII. Keine Entwicklung. IX. Kaum Entwicklung. Lösung etwas flockig. X. Vorherrschend starke Entwicklung. XI. Keine Entwicklung.

Intensitätstabelle:

0	I	I + Marmor	II	III	IV	V	V α	V β	V γ	V δ	VI	VII	VIII	IX	X	XI
4	4	4	4	1	0	2	4	-2	1-2	1-2	2	1	0	-1	-3	0

Säurebildung. Indikator: Rosolsäure 10 ccm Nährlösung V α = 0,3 $\frac{1}{10}$ Normalkalilauge, 10 ccm nach 4-wöchentlicher Entwicklung = 1,5 $\frac{1}{10}$ Normalkalilauge. Säurebildung in 10 ccm = 1,2 ccm $\frac{1}{10}$ Normalkalilauge. Diastasebildung (untersucht in Nährlösung V α) findet statt; nach 24–36 Stunden keine Jodreaktion. Gasbildung findet nicht statt.

Bacillus graveolens α (Fig. III a).

Wurde auf *Petroselinum sativum* gefunden. Die Varietät α von *Bacillus graveolens* unterscheidet sich von *Bacillus graveolens*: 1) Durch eine schleimige Randbildung in der Gelatinestichkultur: Nach 12 Tagen war am Reagensglase, an der Oberfläche der Gelatine ein weißer, flockiger Rand entwickelt. 2) Durch den schleimigen Wuchs der Agarstrichkultur: Nach 16 Stunden war die Kolonie homogen, schleimig, weißlich und haftete fest auf der Agarfläche an; nach 24 Stunden war sie stark schleimig und haftete ebenfalls auf der Agarfläche fest; nach 40 Stunden war die Kolonie glänzend schleimig, homogen und haftete der Agarfläche nicht mehr fest an. Ältere Agarkulturen besaßen einen stinkenden, aber nicht methyaminartigen Geruch. 3) Durch zähschleimiges Wachstum und Bildung langer vielstäbiger Zellfäden auf der Möhrenscheibe: Nach 3 Tagen war eine glasig-weißliche, zum Teil körnige, runzlige, nicht fadenziehend-schleimige, sondern dick-kompakt-schleimige Kolonie entwickelt, welche aus normalen Einzel- und Doppelstäbchen und 20-, 30- und mehrstäbigen Zellfäden bestand, deren Stäbe 1- bis 2-lang und 1- bis 2-zellig waren. 4) Durch die Entwicklung außerordentlich langer, vielstäbiger Zellfäden, in welchen die Stäbe oft durch Schleimfäden zusammenhängen und durch einen äußerst schwachen Schwärmzustand auf Agar: Nach ungefähr 6 Stunden waren außer Einzel- und Doppelstäbchen, welche nicht schwärmten, viele bis 40-stäbige Zellfäden entwickelt, deren Stäbe vorherrschend 1- bis 3-lang (Fig. D, E), und 1- bis 3-zellig waren. Nach 12 bis 16 Stunden waren im Kondenswasser nur wenige Schwärmer vorhanden; der Schwärmzustand war in den verschiedenen, auf Agar mit Dextrose ausgeführten Kulturen stets schwach, was wohl durch die frühzeitige, relativ starke Schleimbildung dieser Species erklärt werden kann. Die erste Kultur, welche ich mit 15 Monate altem Sporenmateriale von Agar angesetzt hatte, zeigte absolut keine Schwärmer. Nach 24 Stunden sind Einzel-, Doppelstäbchen und 10 bis 50-stäbige Zellfäden entwickelt, deren Stäbe 1- bis 2-lang sind. Die entwickelten Sporangien schwärmten nicht. Nach 40 Stunden fand man Einzel-, Doppel-

stäbchen und 60- bis mehrstäbige Zellfäden. In den fertig entwickelten Sporangien, in welchen die Exine und Intine der Sporenmembran bereits ausgebildet war, konnte man mit Hilfe von Fuchsinlösung beobachten, daß die Exine stets relativ dick war. 5) Durch die schleimige Entwicklung und durch die Bildung sehr langer Zellfäden in einigen Nährlösungen: (Nach 4-wöchentlicher Entwicklung bei 28°) Nährlösung 0. Lösung dick, viele angeschwollene Stäbchen, meistens Involutionsformen. Doppelstäbchen und 4-, 6-, 10- bis 20- und mehrstäbige Zellfäden, Stäbe 1- bis 2-lang und 1- bis 2-zellig. I. Starke Entwicklung; Lösung dick, schleimig, mit etwas angesetztem, weißlichem, leicht abschüttelbarem Rande; vielstäbige Zellfäden, Stäbe 1- bis 2-lang; keine Schwärmer. II. Lösung schleimig, weißliche Randbildung; vorherrschend vielstäbige Zellfäden; keine Schwärmer. V. Lösung dick, schleimig, fadenziehend, flockig abgesetzt, Einzel-, Doppelstäbchen und vielstäbige Zellfäden. Va. Starke, dicke, schleimige Entwicklung; Einzel-, Doppelstäbchen und lange vielstäbige Zellfäden. VI. Lösung mit flockigem, gerinnselartigem, nicht schleimigem Bodensatz; Lösung klar; 20-, 30- und mehrstäbige Zellfäden. VII. Entwicklung; schleimiger, fadenziehender Bodensatz; viele Stäbchen in Lösung begriffen. X. Starke Entwicklung; Lösung dick, milchig-weißlich, schleimig.

Intensitätstabelle.

0	I	II	III	IV	V	V _α	V _β	V _γ	V _δ	VI	VII	VIII	IX	X	XI
3				1	4				0-1		1-2			4	

In folgender Weise gelang es mir, die Schleimbildung nach und nach herabzusetzen und auch die damit zusammenhängende Bildung langer Zellfäden, wie die Schwärmerbildung zu ändern. Sporen, welche auf Agar mit Dextrose entwickelt waren, kochte ich ab und impfte sie auf Agar ohne Dextrose. Nach ungefähr 8 Tagen impfte ich die auf diesem Agar ohne Dextrose entwickelten Sporen auf neuen Agar ohne Dextrose und verfuhr zweimal noch in gleicher Weise. Die Schleimbildung nahm nach und nach ab. In der 4. Kolonie, welche auf Agar ohne Dextrose gezüchtet worden war, fand ich nach 14 Stunden erst tröpfchengroße Kolonien, welche aus normalen Einzel-, Doppelstäbchen und wenigen bis 8-stäubigen Zellfäden bestanden. Viele Bakterien, speziell im Kondenswasser waren jetzt in lebhafter Schwärmtätigkeit. Nach 20-24 Stunden war die Kolonie jetzt schwach häutig, nicht mehr so schleimig, und dementsprechend hatte auch die Bildung der äußerst langen vielstäbigen Zellfäden, deren Stäbe oft durch Schleimfäden zusammengehalten wurden, nachgelassen. Auf Agar mit Dextrose wurde dagegen nach 14-20 Stunden wiederum eine stärker schleimige, auf der Agarfläche fest anhaftende Kolonie entwickelt.

Diese Versuche beweisen, daß es möglich ist, die Schleimbildung nach und nach zu beschränken, und es ist wahrscheinlich, daß wir es hier mit einer Varietät zu thun haben, deren Eigenschaften nach längerer Kultivierung des Bakteriums auf dextrosefreiem Agar mit denen von *Bacillus graveolens* vollständig übereinstimmen werden.

Bacillus graveolens a (Fig. III b).

Diese Species wurde auf der „roten Rübe, *Beta vulgaris rubra*“ gefunden. Die Angaben, welche ich für *Bac. graveolens* gemacht habe, gelten alle für *Bac. graveolens* a, soweit sie nicht durch das folgende eine Aenderung erfahren; die hauptsächlichsten Verschiedenheiten sind durch gesperrten Druck erkenntlich.

1) Die ältere Agarkultur zeigte stets einen eigenartig stinkenden, aber nur schwach methylaminartigen Geruch.

2) Bald nach der Keimung der Sporen auf Agar bei 28° fand ich sehr häufig mehrstäbige Zellfäden, bei welchen einige Stäbe, wie in Fig. E, zu langen, dünnen, einstäbigen Zellfäden ausgewachsen waren; durch Zerfall dieser Zellfäden resultierten viele sehr lange 1- und mehrstäbige dünne Zellfäden, welche häufig etwas spiralig geschlängelt waren (Fig. F).

3) Die normalen Stäbe und Zellfäden in der 16-stündigen Agarkolonie entsprechen den Fig. G, H b, c, d, l, g, h, k, die etwas angeschwollenen

Stäbchen den Fig. H a, e, f, i. Nach 24 Stunden fand ich auf Agar Sporangien wie Fig. M a, b, c, d, und Stäbe wie Fig. L a, b, c, d, e, f, g, h; nach 40 Stunden waren im Kondenswasser meist Einzel- und Doppelstäbchen und mehrstäbige Zellfäden (Fig. N O a, b, P), auf der Agarfläche Ruhestäbchen, Involutionsformen (Fig. R a, b, c), und Sporangien, bis 30- und mehrstäbige Zellfäden mit aus meist ein-, selten 2-langen Sporangien bestehenden Stäbchen (Fig. Q a, b, c, d, e, S) entwickelt.

4) In Nährlösung V, nach 4-wöchentlicher Entwicklung bei 28°. Lösung milchig-weiß; gute Entwicklung; lebhaft schwärmende Einzel-, Doppelstäbchen und mehrstäbige Zellfäden.

Intensitätstabelle:

0	I	II	III	IV	V	V α	V β	V γ	V δ	VI	VII	VIII	IX	X	IX
	3	3			4				0-1						4

Wichtigste Merkmale der Species „*Bacillus graveolens*“.

Spore. Sporengröße: 1,39—1,7 μ breit, 1,9—2,5, selten 2,9 μ lang. Sporenform: Fig. A, B, C; Sporenmembran in deutlich sichtbare Intine und Exine gegliedert. Meist nur relativ schwache Anschwellung der Sporen vor der Keimung; dieselben keimen vorherrschend seitlich (Fig. D). Die Keimstäbchen sind meistens 1- bis 2-lang und ungefähr 1,39—1,5 μ breit; nach kurzer Zeit der Ruhe beginnen sie zu schwärmen. Auf Agar, nach 7—8 Stunden bei 28° sind Einzel-, Doppelstäbchen und bis 8-stäbige Zellfäden, deren Stäbe 2- bis 3-lang sind (Fig. E, F, G, H), entwickelt, nach 14—18 Stunden lebhaft schwärmende Einzel- und Doppelstäbchen, mit kleinen Fetttröpfchen, von normaler Dicke; Stäbe vorherrschend 1-, seltener 2-lang (Fig. I a, b, c). Nach 20—24 Stunden sind meistens normale 1- bis 2-lange, oft lebhaft schwärmende, Einzel- und Doppelstäbchen (Fig. K a, b, c, d, g), selten etwas angeschwollene Stäbe (Fig. K e, f, l) und bis 14-stäbige Zellfäden vorhanden; das schmalste vorkommende, jedoch normale, Stäbchen sehen wir in Fig. K d, das kürzeste in Fig. K g dargestellt. In vielen Stäbchen sind Sporen ausgebildet; viele Sporangien schwärmen lebhaft, die Formen derselben sind wie Fig. K h, i, k, n, o, p, q, M a, b, c. Nach 36—40 Stunden sind im oberen Teile der Agarkolonie freiliegende Sporen, Sporangien und Ruhestäbchen entwickelt. Außer Einzel- und Doppelsporangien und mehrstäbigen Zellfäden mit aus einlangen Sporangien bestehenden, oft schon fettfreien Stäbchen von meistens normaler Dicke, findet man jetzt auch anormal gestaltete, verschieden lange, dünnere und dickere Zellen. Die Schwärmer besitzen peritriche Begeißelung (Fig. N, O, P). Die Intensität des Wuchses in den Nährlösungen V α = 4, V β = 0—2, III, VII, IV = 0—1 ist charakteristisch. Die Agarstrichkultur ist nach 20—24 Stunden bei 28 deutlich häutig, meist relativ dünn, glatt, marmoriert, oder etwas faltig; nach 4—5 Tagen besitzt die Agarkolonie meistens einen trimethylaminartigen Geruch. Die Möhrenkultur ist nach 5 Tagen homogen, weißlich, zäh-schleimig. Diastasebildung und Säurebildung sind in Nährlösung V α vorhanden. Die Gelatine wird verflüssigt.

Da *Bacillus graveolens* dem *Bacillus tumescens* sehr nahe steht, so will ich noch kurz die wichtigsten Unterschiede zwischen diesen beiden Formen angeben:

1) *Bac. graveolens* entwickelt auf Agar, nach 20—24 Stunden, bei 28° eine häutige Kolonie, ältere Agarkulturen besaßen meistens einen mehr oder weniger starken trimethylamin-ähnlichen Geruch. *Bac. tumescens* zeigt dagegen nach gleicher Zeit eine homogene, weiße, dicke, schleimige, nicht häutige Kolonie; ältere Agarkulturen besaßen einen stinkenden, jedoch niemals trimethylaminartigen Geruch.

2) *Bac. graveolens* entwickelt auf einer Möhrenscheibe nach 24 Stunden kurze, meist 1-lange Einzel- und Doppelstäbchen mit Fetttröpfchen, fast keine mehrstäbigen Zellfäden, nach 5 Tagen Einzel- und Doppelstäbe (Fig. Q a, b, c, d), von denen viele noch lebhaft schwärzten, Ruhestäbchen, Sporangien und freiliegende Sporen. *Bac. tumescens* entwickelt dagegen nach 24 Stunden vorherrschend vielstäbige Zellfäden, deren Stäbe 1- bis 2-lang, 1- bis 2-zellig und mit Fetttröpfchen angefüllt sind; nach 5 Tagen vorherrschend vielstäbige Zellfäden, mit relativ dicken, oft angeschwollenen Stäben (Fig. K a, b).

3) Nach 14—18, selbst noch nach 20—24 Stunden findet man in der Agarkolonie von *Bac. graveolens* im Gegensatz zu *Bac. tumescens* viele lebhaft schwärmer. Viele Stäbchen sind bei *Bac. graveolens* kürzer und schmaler als bei *Bac. tumescens*.

4) Die Sporangien, welche von *Bac. graveolens* auf Agar nach 24 Stunden bei 28° entwickelt werden, entsprechen den Fig. R h, i, k, n, o, p, q, M a, b, c, viele Sporangien schwärmen; die Sporangien, welche von *Bac. tumescens* nach gleicher Zeit entwickelt werden, entsprechen der Fig. H und schwärmen normalerweise auf Agar nicht.

5) *Bac. graveolens* entwickelt in Nährlösung X, nach dem Impfen mit 14-stündigem Stäbchenmaterial von Agar, nach 7 Tagen, bei 28° vorherrschend normale kurze Einzel- und Doppelstäbchen, wie Fig. S a, c, d, e; *Bac. tumescens* dagegen 2- und 4-lange Stäbe, wie Fig. L a, b.

6) *Bac. graveolens* entwickelt sich in Nährlösung V β schlecht; die Sporen keimen nicht, 14 Tage lang ist selbst nach Impfen mit gutem Stäbchenmaterial von Agar noch keine Entwicklung zu konstatieren, sondern erst nach 4 Wochen. Die Sporen von *Bac. tumescens* keimen dagegen in Nährlösung V β und die Entwicklung dieser Species geht in dieser Nährlösung normal von statten.

Bacillus Petasites A. M. et Gottheil (Fig. VII).

Möglicherweise synonym: *Bacillus lacteus* (Lembke, Weiterer Beitrag z. Bakterienflora des Darmes. Archiv f. Hygiene. Bd. XXIX. 97. p. 323).

Diese Species wurde auf *Petasites albus* und *Apium graveolens* gefunden. Gelatineplattenkultur. Nach ungefähr 2 Tagen sind weiße, mikroskopisch beobachtet, unregelmäßig rundliche, und mehr längliche, körnig aussehende Kolonien entwickelt; bei fast vollständig geöffneter Blende erscheinen dieselben

graubraun. Untersucht man eine solche Kolonie mit Objektiv E, von Zeiß, so erkennt man einen dichten Haufen kurzer, relativ dicker Stäbchen. Eine Platte mit vielen Kolonien war bereits nach 3 Tagen, eine mit wenigen Kolonien selbst nach 4 Tagen noch nicht verflüssigt. Gelatinestichkultur. Nach ungefähr 5 Tagen war auf der Oberfläche eine gelbliche Kolonie entwickelt, die grubig in die Gelatine eingesunken war; nach 8 Tagen war die Gelatine 1 cm hoch verflüssigt, gleichmäßig trübe, gelblich; die Verflüssigung war noch nicht vollständig bis zur Glaswand des Reagenzglases fortgeschritten. Im Stich findet keine Entwicklung statt. Agarstrichkultur. Nach 15—20 Stunden ist eine glasige, weißliche, homogene, glänzende, mehr oder weniger schleimige Kolonie entwickelt; nach 36 Stunden war dieselbe weißlich, grau- oder schwach gelblich, vollständig homogen, nicht häutig; nach 3—5 Tagen wurde sie gelblicher, nach 8 Tagen wurde der obere Teil der Agarkolonie rötlich, der untere meistens intensiver gelb. Die Gelbfärbung der Kolonie tritt meistens besser nach eintägiger Entwicklung bei 28° und Weiterentwicklung bei Zimmertemperatur ein. 2—3 Tage alte Kolonien wurden, nachdem ich diese Species ungefähr 2 Jahre auf Agar + 1 Proz. Dextrose in Kultur hatte, weißlich, glatt, später gelblich, manchmal schwach häutig. Agarstrichkultur. Auf der Oberfläche entwickelte Bac. Petasites eine gelbe, homogene, dicke Kolonie, die in den Stich bis 0,8 cm tief eindrang. Wachstum auf steriler Möhrenscheibe. Auf einer Möhrenscheibe von 2 cm Durchmesser ist nach 3 Tagen eine dicke, glasige, schleimig-fadenziehende Kolonie von 1 cm Durchmesser entwickelt, welche aus Einzel- und Doppelstäbchen besteht, die 1- bis 2-lang sind, nicht schwärzten, und viele Fetttropfen gespeichert haben. Nach ungefähr 8 Tagen ist die Möhrenscheibe von einer gelben, nach der Peripherie zu orangegelben, dicken, mattglänzenden, homogenen, nicht häutigen Kolonie bedeckt, welche aus Einzel- und Doppelstäbchen, seltener bis 8-stäubigen Zellfäden (Fig. U a, b, c, d, e, f) gebildet wird, deren Stäbe teils angeschwollen, etwas abgerundet, teils zugespitzt sind, und teilweise Sporen entwickelt und Fetttropfen gespeichert haben. Ältere Kolonien waren homogen, tiefgelb, wachsartig. Kartoffelkultur. Ungefähr nach 9 Tagen war eine Kolonie von einem Durchmesser von 2 cm vorhanden, dieselbe war homogen, stark glänzend, in der Mitte, in der Größe von ungefähr 1 cm Durchmesser gelb, nach der Peripherie zu weißlich; nach 14 Tagen war die ganze Kolonie gleichmäßig gelb. Ich untersuchte diese gelbe Bakterienmasse mikroskopisch, um eventuell nachzuweisen, wovon die Gelbfärbung herrührte. Außer den in den Bakterien selbst eingelagerten Fetttropfen findet man noch außerhalb der Bakterien große, weiche, tropfenförmige Massen, die sich mit Sudan und Dimethylamidoazobenzol, im Gegensatz zu den in den Bakterien befindlichen Fetttropfen, nicht färben, diese unregelmäßig geformten Massen wurden ungefähr 4—8 μ breit und bis 20 μ lang, eine Gelbfärbung derselben konnte ich unter dem Mikroskop nicht mit Sicherheit nachweisen. Mit Alkohol läßt sich aus einer solchen gelben Kolonie ein gelber Farbstoff

ausziehen. Mehrere Monate später setzte ich *B. Petasites* nochmals auf Kartoffel an; dieses Mal wurde nach ungefähr 8 Tagen eine mehr graue, zerflossene, also keine dicke, homogene, gelbe, Kolonie entwickelt; vielleicht in Folge des veränderten Nährbodens.

Entwicklungsgang von *Bacillus Petasites* auf Dextroseagar. Das Sporenmateriale war 12 Monate alt. Die Sporen sind $0,83-1,11 \mu$ breit, $1,7-2,2 \mu$ lang, von äußerst verschiedener Form, teils ellipsoidisch (Fig. A a, b), teils länglich-cylindrisch, teils etwas sichelförmig gekrümmt (Fig. A c, d); seltener kommen Sporenformen vor, wie Fig. B a, b, c, d, e, und vereinzelt auch solche mit schwachen, oft seitlichen Ecken (Fig. A d); im optischen Querschnitte erscheinen sie rund (Fig. C). Ihre Membran ist relativ dünn, oft an den Polen etwas dicker als an den Längsseiten und ist gut nach Durchfärbung mit Methylenblau-, oder noch besser nach Durchfärbung mit Fuchsinlösung zu erkennen. Eine Differenzierung der Sporenmembran in Exine und Intine ist (mit Immersion Zeiß $\frac{1}{1,2}$, Ap. 1,3) nicht wahrzunehmen. Die Sporen keimen auf Agar nach ungefähr 4—5 Stunden. Kurz vor der Keimung sind sie meistens sehr stark angeschwollen, bis $1,8 \mu$ breit und $4,5 \mu$ lang (Fig. D a, b, c). Die Keimung erfolgt polar (Fig. E a, b, c) wie auch in der Weise, daß die stark angeschwollenen, gekrümmten Keimstäbchen die Sporenmembran sprengen und gekrümmt, kommaförmig (Fig. G a, b, c) austreten. Häufig fand ich, daß die Sporenmembran sich bis zur Stäbchenlänge streckte und dann (Fig. F) ungleichmäßig zerriß; außerdem kommt noch äquatoriale Keimung vor, wobei entweder eine Längsseite der Sporenmembran zerreißt und das Stäbchen häufig schräg heraus schlüpft (Fig. H), oder seltener, wobei äquatoriales, ringsum erfolgendes Aufreißen der Sporenmembran, Streckung des Stäbchens und dann Festhaften der Sporenmembran als Kappen an den Polen (Fig. I) stattfindet. Die Keimstäbchen schwärmten nicht sofort, sie werden 2- bis 3-lang und ungefähr $1,39-1,5 \mu$ breit; nach Durchfärbung derselben mit Methylenblaulösung 1:40 erkennt man in ihnen feine Vakuolen. Nach ungefähr 6—7 Stunden sind Einzelstäbchen, wie auch bis 4-, seltener 8-stäbige Zellfäden entwickelt, deren Stäbe homogen, meistens zweilang und 2-zellig sind (Fig. L). Nach ungefähr 15—16 Stunden findet man außer 4- bis 8- und mehrlangen meistens septierten (Chlorzinkjod) Stäben (Fig. K, M a) sehr viele 1- bis 2-lange Einzel- und Doppelstäbchen (Fig. N a, b, c. M b), von denen sowohl die auf der Agarkolonie, als auch die im Kondenswasser meist lebhaft schwärmten, und bis 4-, äußerst selten bis 8-stäbige Zellfäden. Die meisten Zellen sind kurz, von normaler Dicke, mit Fetttropfchen angefüllt; in den 4- bis 8-stäbigen Zellfäden sind die Zellen oft etwas angeschwollen, 2-lang und 2-zellig (Chlorzinkjod). Im oberen Teile der Agarkolonie haben die meisten Stäbchen bereits die Sporenvakuolen angelegt und die Fetttropfchen seitlich von denselben abgeschoben. Im Kondenswasser findet man vorherrschend Einzel- und Doppelstäbchen, selten 4-stäbige Zellfäden; die Stäbchen sind von oft wechselnder Dicke, schwärmen lebhaft und haben Fetttropfchen ge-

speichert; vereinzelt findet man auch, aus wahrscheinlich später gekeimten Sporen hervorgegangen, noch homogene Stäbchen, die 2-lang, 2-zellig und zu 20- bis 30-ständigen Zellfäden verbunden sind. Nach 20 bis 24 Stunden findet man im oberen Teile der Agarkolonie vorherrschend Sporangien (Fig. Q a, b, c, R a, b, c); meistens Einzel- und Doppelsporangien, oft auch 2-lange Stäbe, welche 1-zellig sind, und 2 Sporen entwickelt haben, doch häufig erkennt man, mit Hilfe von Chlorzinkjod, daß in diesen 2-langen Stäbchen eine Septe vorhanden ist. Weiterhin findet man auch wenige 4-, 6- bis 8-ständige Zellfäden mit aus 1-langen Sporangien bestehenden, oft etwas angeschwollenen Stäbchen. Die meisten Sporangien sind charakteristischerweise von normaler Dicke, walzenförmig (Fig. Q b, c) oder ellipsoidisch (Fig. Q a). Die in den Sporangien oft schräg liegenden Sporen sind ellipsoidisch, länglich oder sichelförmig gekrümmt und füllen (Chlorzinkjod) meistens die Zellen fast vollständig aus. Im Kondenswasser schwärmen wenige kurze Stäbchen noch nach 20—36 Stunden. Nach 36—40 Stunden findet man im oberen Teile der Agarkolonie frei liegende Sporen, Sporangien und Ruhestäbchen. Die Sporen erscheinen nach der Färbung mit Methylenblau glatt und nicht wie bei *Bac. ruminatus* mit einer Hülle umgeben. Es sind meistens Einzel- und Doppelstäbchen entwickelt, nur wenige 3-, 4-, bis 6-ständige Zellfäden; die Stäbe sind äußerst verschieden lang und dick; sehr viele sind schmaler als die Keimstäbchen, viele von ihnen laufen in charakteristischer Weise spitz zu. Man findet jetzt also meistens Einzel- und Doppelsporangien, von sehr variabler Form, sie sind entweder stäbchenförmig 1- bis 2-lang oder ellipsoidisch, eiförmig; im Kondenswasser 1- bis 3-lange Einzel- und Doppelstäbchen und 4-, bis 15-ständige Zellfäden, deren Stäbe meistens 2-lang sind, dabei die Zellen fast stets von normaler Dicke, also nicht angeschwollen; vereinzelt findet man noch Schwärmer. Nach ungefähr 3 Tagen sind in der meist gelblichen, homogenen Kolonie außer Sporen und normalen Sporangien viele involutionsformartige, kurze, angeschwollene, rundliche oder längere, oft zugespitzte Zellen vorhanden (Fig. S, T, U a, b, c, d, e, f). An den nach Loeffler gefärbten Schwärmern erkennt man peritriche Begeißelung (Fig. O, P). An einem 2-langen Stäbchen waren höchstens 5 Geißeln zu finden; öfters fand ich an einigen 2-langen Stäbchen nur 2 bis 3 Geißeln, ohne daß ich, an den sorgfältig ausgeführten Präparaten, ein Abwerfen oder eine Verquellung von Geißeln hätte konstatieren können.

Entwicklungsgang in Nährlösung. Die Sporen von *Bacillus Petasites* keimen in Nährlösung V β (Asparagin 1,0 Gelaktose 3,0, mineral. Lösung 100). Nach ungefähr 2—3 Tagen ist die Lösung opaleszierend getrübt und man findet dann Einzel- und Doppelstäbchen, welche teilweise schwärmen, meistens 1- bis 2-, doch auch 3- bis 4-lang sind, und Fetttropfchen gespeichert haben. Nach ungefähr 8 Tagen war eine dünne Kahnhaut entwickelt; die Lösung war nach dem Umschütteln undurchsichtig trübe, und man fand in derselben viele äußerst lebhaft schwärmende normale, wie auch etwas angeschwollene Einzel- und Doppelstäbchen; teilweise waren

auch schon Sporen entwickelt. Nach mehreren Wochen wurde die Lösung gelblich.

Wachstum in den verschiedenen Nährlösungen.

Nach 6-wöchentlicher Entwicklung bei 28°. Nährlösung 0. Entwicklung. Normale Stäbchen und Involutionsformen. I, I + Marmor. Entwicklung; meist 1- bis 4- und mehrlange Stäbchen, oft lange Zellfäden. II. Starke Entwicklung. Involutionsformen und 1- bis 2-lange dünne Stäbchen; Zellfäden. III. Keine Entwicklung. IV. Kaum Entwicklung. V. Lösung gelblich; Entwicklung. Meistens Involutionsformen. V_α. Lösung weiß, undurchsichtig, gesunde Kultur; vorherrschend normale 1- bis 2-lange Einzelstäbchen. V_β. Lösung gelblich undurchsichtig. Gesunde Kultur; Stäbchen 1- bis 2-lang; viele noch lebhafte Schwärmer, auch Sporen und Involutionsformen. V_γ. Lösung dick, gelblich. Meist Involutionsformen. Wenige 1- bis 2-lange Stäbchen, noch in Schwimmbewegung. V_δ. Lösung trübe, gelb. Normale Stäbchen, welche nicht schwärmen, doch meistens Involutionsformen. VI. Lösung weiß; nur Involutionsformen; Stäbchen im Zerfall. VII. Lösung trübe; Involutionsformen, wenige Sporen. VIII, IX, XI. Keine Entwicklung. X. Lösung trübe, weiß; meistens normale 1- bis 2-lange Einzel- und Doppelstäbchen mit Fettröpfchen.

Intensitätstabelle:

0	I	I + Marmor	II	III	IV	V	V _α	V _β	V _γ	V _δ	VI	VII	VIII	IX	X	XI
3	3	3	4	0	0-1	2-3	3	3-4	4	3	3	2	0	0	3	0

Alkalibildung. Indikator: Dimethylamidoazobenzol. 10 ccm Nährlösung V_β = 0,3 ccm $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure, 10 ccm nach 4-wöchentlicher Entwicklung bei 28° = 8,9 ccm $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure. Alkalibildung in 10 ccm = 8,6 ccm Normalschwefelsäure. Diastasebildung (untersucht in Nährlösung V_β, nach 4-wöchentl. Entwicklung) ist vorhanden; nach 24 Stunden keine Jodreaktion. Gasbildung findet nicht statt.

Wichtigste Merkmale der Species „Bacillus Petasites“.

Spore. Sporengröße: 0,83–1,11 μ breit, 1,7–2,2 μ lang. Sporenform. Ellipsoidisch, manchmal mit schwachen Spitzen, länglich, oft sichelförmig gekrümmt (Fig. A a, b, c, d, B a, b, c, d, e); die Sporenmembran ist relativ dünn, gut nach Durchfärbung mit Fuchsin sichtbar; Exine und Intine sind nicht zu unterscheiden. Vor der Keimung schwellen die Sporen stark an (Fig. D a, b, c). Die Keimung erfolgt in folgender Weise: 1) polar (Fig. E a, b, c); 2) seitlich, äquatorial; einseitiges Aufreißen der Sporenmembran, schnelles Wachstum des Keimstäbchens, Keimung mit kommaförmig gekrümmten Stäbchen (Fig. G a, b, c); 3) seitlich, äquatorial; eine Längsseite der Sporenmembran reißt und das Stäbchen schlüpft häufig schräg heraus (Fig. H); 4) Streckung der Membran bis zur Stäbchenlänge und unregelmäßiges Zerreißen derselben (Fig. F); 5) Selten äquatorial, ringförmiges Aufreißen der Sporenmembran, Streckung der Keimstäbchen, Membran als Kappen an den Polen desselben festhaftend (Fig. I). Die Keimstäbchen, welche nicht sofort schwärmen, werden 2- bis 3-lang und ungefähr 1,39–1,5 μ breit. Auf Agar nach 6–7 Stunden sind Einzel- und Doppelstäbchen und 4-, seltener bis 8-stäbige Zellfäden vorhanden, deren Stäbe homogen 2-lang und 2-zellig sind (Fig. L); nach 15–16 Stunden meistens lebhaft schwärmende Einzel-, Doppel-

stäbchen (Fig. N a, b, c) und bis 4-, äußerst selten bis 8-stäbige Zellfäden; Stäbchen mit Fetttröpfchen angefüllt; Zellen sehr häufig äußerst kurz (Chlorzinkjod) und von normaler Dicke; die Stäbe in den Zellfäden sind oft etwas angeschwollen. Nach 20—24 Stunden findet man im oberen Teile der Agarkolonie vorherrschend Sporangien (Fig. Q a, b, c, R a, b, c); die in denselben oft schräg liegenden Sporen sind oval, meist länglich oder sichelförmig. Nach 36—40 Stunden findet man freiliegende Sporen, Sporangien und Ruhestäbchen; es sind vorherrschend Einzel- und Doppelsporangien, jetzt von sehr variabler Form, entweder stäbchenförmig 1- bis 2-lang, oder oval, eiförmig; die Ruhestäbchen sind fast alle schmaler als die Keimstäbchen und laufen in charakteristischer Weise häufig spitz zu. Die Schwärmer besitzen peritriche Begeißelung (Fig. O, P). Die Intensität des Wuchses in den Nährlösungen $V\beta = 3-4$, $V\delta = 3$, $V\gamma = 4$ und III, IV, IX = 0 ist charakteristisch. Die Agarstrichkultur. Nach 15—20 Stunden weißlich, homogen, glänzend schleimig. Ältere, besonders bei Zimmertemperatur entwickelte, Kolonien werden mehr oder weniger intensiv gelb, im oberen Teile manchmal rötlich. Die Möhrenkultur ist nach mehreren Tagen dick, glasig, mehr oder weniger stark schleimig-fadenziehend. Alte Kolonien werden meistens gelb gefärbt. Starke Diastase- und Alkalibildung sind in Nährlösung $V\beta$ vorhanden. Die Gelatine wird verflüssigt.

Bacillus ellenbachensis Stutzer (Fig. V).

Synonym: *Bacterium Petroselini* Burchard. (Beiträge z. Morphol. u. Entw. der Bakterien. Arbeiten aus dem bakt. Inst. der techn. Hochschule zu Karlsruhe. 1898.)

Möglicherweise synonym: *Bacillus cereus* Frankland (Grace and Percy Frankland, Studies on some new microorganism obtained from air Philos. Transact. of the R. Society of London. Vol. CLXXVIII. Bd. 87 p. 297). *Bacillus limosus* Russell (Zeitschrift f. Hyg. Bd. XI. 92. p. 196). *Bacillus lutulentus* Kern (Beitrag zur Kenntnis der im Darne und Magen der Vögel vorkommenden Bakterien). *Bacillus cursor* Burchard (Beiträge zur Morpholog. und Entwicklungsgeschichte der Bakterien). *Bacillus loxosus* Burchard (Beiträge zur Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Bakterien). *Bacillus goniosporus* Burchard (Beiträge zur Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Bakterien). *Bacterium turgescens* Burchard (Beiträge zur Morphologie u. Entwicklungsgeschichte der Bakterien; Arbeiten aus dem bakt. Institut der techn. Hochschule zu Karlsruhe 1898). *Bacillus stoloniferus* Pohl (Ueber Kultur und Eigenschaften einiger Sumpfwasserbacillen und über die Anwendung alkalischer Nährgelatine. Centralbl. f. Bakt. Bd. XI). *Bacillus ramosus liquefaciens* (Flügge, Lehrbuch). *Bacillus brevis* o (Flügge, Die Aufgaben und Leistungen der Milchsterilisierung. Zeitschrift f. Hygiene. Bd. XVII. 1894. p. 294).

Litteratur: Stutzer und Hartleb. 1898. Stoklasa. 1898. Lauck. 1898, 1899. Kolkwitz. 1899. Hartleb. 1899. Frank. 1886. 1898. Krüger und Schneidewind. 1899.

Diese Species wurde auf *Apium graveolens*, *Beta vulgaris zonata*, *Beta vulgaris lutea*, *Brassica Napus esculenta*, *Brassica oleracea gongyloides*, *Brassica Rapa communis*, *Raphanus sativus* gefunden. In der

Litteratur finden wir über *Bacillus ellenbachensis* folgende Angaben: Stutzer und Hartleb (1898. p. 31) sagen:

„Das Mikrobium, welches (im Alinit) als *Bacillus Ellenbachii* alpha bezeichnet wird, ist in diesem Medium meist in Form ovoider Dauerformen des Bakteriums vorhanden. Der Bacillus ist ein ausgesprochener Aërobieer, er gehört zur Gruppe der Heubacillen und steht dem *Bacillus mycoides* oder dem *Bacillus megatherium* nahe. Infolgedessen kommt ihm die Fähigkeit zu, lange Scheinfäden und endogene Sporen zu bilden. Der Vorgang der Sporenbildung und der Keimung ist derselbe wie bei *megatherium*.“

In dem darauf Folgenden werden von Stutzer und Hartleb die Beschreibungen der Gelatineplattenkultur, Agarplattenkultur, Agarstrichkultur, des Wachstums in schwach alkalischem Peptonfleischwasser und des Wachstums auf Kartoffeln von *Bac. Ellenbachii* ausgeführt. Bemerkenswert ist dabei, daß stets mit „Alinit“ geimpft wurde.

Dann folgt eine Angabe von Stoklasa (1898. p. 78). Die Art der Charakterisierung des *Bacillus Ellenbachii* schließt sich im wesentlichen der Beschreibung von Stutzer und Hartleb an. Stoklasa geht vom „Alinit“ aus. Ausführlich ist die Gelatineplattenkultur beschrieben; dann folgt die Beschreibung der Gelatinestichkultur, Agarstrichkultur und Kartoffelkultur.

Ueber die Morphologie giebt Stoklasa Näheres an, er sagt: „Der *Bacillus Ellenbachii* α unterliegt, wie ja alle Mikroorganismen überhaupt, in Bezug auf seine Größe jenen Schwankungen, wie sie von den verschiedenen Kultur- und Ernährungsverhältnissen und von dem Alter des Individuums bedingt sind. Es handelt sich um ein großes Stäbchen von im Mittel 1,5–2 μ Breite und 2–3,5 μ Länge, dessen erste Entwicklung auf festen Nährböden in der Regel in Fadenform vor sich geht. An den Fadenformen lassen sich während ihrer frühesten Entwicklungsperiode Scheidewände nicht nachweisen, sie treten, wenn die Entwicklung bei Körpertemperatur geschah, nach 4-stündigem Alter, bei Zimmertemperatur sogar erst nach 48-stündigem Alter in Wahrnehmung.“ p. 110. „So lange das Stäbchen im Fadenverbände sich befindet, besitzt es, ähnlich dem *Anthraxbacillus*, flache (wie abgehackte) Enden. Bei dem aus dem Fadenverbände getretenen, isolierten Stäbchen runden sich die Enden ab und man findet an ihnen alle Abstufungen, von sanft abgerundeten Ecken an bis zur halbkugeligen Endfläche.“

Der Inhalt der Bakterienzelle läßt sich schon im unbehandelten Zustande im hängenden Tropfen ziemlich leicht, noch besser mit Lugol'scher Lösung (Fixierung mit Jodalkohol und nachfolgender Färbung geben weniger gute Resultate) differenzieren. In den meisten Stäbchen und Fäden (4 Tage alte Blutserumkultur, 4 Stunden alte Agarkultur) sind Chromatinkörnchen von kugelige Gestalt von 0,1–0,6 μ Durchmesser vorhanden, häufig eines bis drei unregelmäßig an verschiedenen Stellen im Protoplasma situiert, manchmal 4 oder mehr in einer Reihe, wie eine kurze Streptokokkenkette. Selten sind Zellen vorhanden, die mit Chromatinkörnchen wie angestopft erscheinen. In Präparaten aus älteren Kulturen, insbesondere aus solchen auf Glyceringlukoseagar und auf Kartoffel können die Chromatinkörnchen auch außerhalb der Zelle frei in relativ großen Mengen auftreten, sei es, daß durch die wenig schonende Präparationsweise eine Anzahl Stäbchen zerstört wurden und ihren Inhalt freigaben, oder daß sie von spontan untergegangenen vegetativen Formen stammen. Ein solches Präparat erscheint wie durch Kokken verunreinigt. Doch lehrten die aus den betreffenden Kulturen angelegten Kontrollplatten, daß es sich um einen fremden Mikroorganismus nicht handelte. Vakuolen kommen im ganzen seltener und bloß einzeln vor. Sie haben gewöhnlich 0,7–0,8 μ im Durchmesser.“

Aus den Beschreibungen, welche H. Lauck (1898. p. 290) von der Gelatineplattenkultur, der Gelatinestichkultur, Agarstichkultur, Agarstrichkultur giebt, ist es vielleicht nur von Interesse das mitzuteilen, was Lauck, welcher *Bac. ellenbachensis* aus Alinit isoliert hat, über die Gelatinestichkultur gesagt hat: „Die Stichkulturen auf Gelatine, zur Unterscheidung des von Stutzer und Hartleb angeführten *Bacillus mycoides* maßgebend, zeigten nach 48 Stunden eine von der Oberfläche den Stichkanal entlang laufende trichterförmige Verflüssigung, die im Kanal weißflockige Massen, an der Oberfläche ein noch schwaches, weißes, käsiges, später, sobald alle Gelatine verflüssigt, im ganzen oder

zerrissenen Zustände zu Boden sinkendes Häutchen erkennen ließen, während die sich absetzende weiße Masse später dick und zähflockig wird. *Bacillus mycoides* hingegen wächst ganz anders; er zeigt hier längs des Impfstichs sein typisches, von Fraenkel mit einem umgekehrt aufgestellten Tannenbaum so richtig bezeichnetes Wachstum, gleichsam eine Wurzel mit seinen Wurzelhaaren darstellend.“ Hieran anschließend führt Lauck aus, weshalb dieser *Bac. ellenbachensis* nicht gleich *Bac. megatherium* anzusehen ist; er sagt: „*Bacillus megatherium* kann der im Alinit befindliche Spaltpilz ebenfalls nicht sein, weil das Wachstum dieses *Bacillus* in allen Nährböden ein viel langsames ist und die Verflüssigung der Gelatine auch demzufolge später eintritt, ferner ist die sofort schleimig auftretende, graubraune, glänzende Auflagerung auf der Kartoffelkultur eine ganz andere und der *Bacillus* selbst zeigt, mit Züchtungen auf ein und demselben Nährboden verglichen, durchschnittlich eine viel längere und dickere, leicht bogige Form, läßt auch Geißeln nicht nachweisen.“ Lauck kommt schließlich in seiner Arbeit nach „seinen, wie er meinte, wohl genügenden Beobachtungen“ zur Ueberzeugung, daß der als *Bac. Ellenbachii* bezeichnete Spaltpilz der gewöhnliche von Ehrenberg schon längst erforschte *Bacillus subtilis* sei. Die Unrichtigkeit dieser Annahme ist bereits schon von Kolkwitz und von Hartleb erwiesen. Aus der späteren Arbeit von Lauck (1899. p. 54) ist nur folgendes für mich von Interesse: „Auf die Frage, ob das Alinit wirklich eine bakteriologische Reinkultur darstellt, näher einzugehen, erachte ich eigentlich für überflüssig, da jeder auch nur laienhaft gebildete Bakteriologe mir dies bei der ersten Plattenkultur sofort bestätigen muß.“ Kolkwitz (1899) hat zum ersten Male auch die Sporenkeimung von *Bacillus ellenbachensis* beobachtet; in seiner Arbeit ist folgendes p. 670 gesagt: „Der *Bacillus*, welcher uns hier beschäftigt, lebt im Boden wie der viel häufigere charakteristische *Wurzelbacillus* (*Bac. mycoides*), mit dem er manche ernährungsphysiologische Eigenschaften gemein zu haben scheint. Ich meine also, daß *Bac. mycoides* physiologisch ein mindestens ebenso hohes Interesse beanspruchen darf als der *Alinitbacillus*. Ich will gleich an dieser Stelle vorwegnehmen, daß ihm am besten sein ursprünglicher Name „*Bacillus Ellenbachii*“ verbleibt, daß er jedenfalls weder mit *Bacillus megatherium*, noch weniger mit *Bac. subtilis* Cohn, Ehrenberg, identisch ist, dessen Sporenkeimung ja jedermann kennt. — Die Keimung der Sporen habe ich ganz besonders eingehend studiert und sie speciell ist es, welche mir eine genaue Diagnose des *Bacillus* ermöglichte. Die Länge der Sporen beträgt ca. 1,7 μ , die Breite etwa 1 μ . Ohne Ausnahme keimen die Sporen des *Bacillus Ellenbachii* in der Längsrichtung aus (ebenso verhält sich *Bac. mycoides*).“

p. 676 führt Kolkwitz die Erscheinung an, daß bei der Keimung der Sporen von *Bacillus Ellenbachii* noch oft die Stäbchenmembran als Anhängsel an der Sporenmembran zu beobachten ist. Ueber die Fettbildung bei *Bac. Ellenbachii* hat Kolkwitz folgendes gefunden: „Wachstum des *Bacillus* auf Kartoffeln mit Traubenzucker.“ „Wenn *Bac. Ellenbachii* auf Kartoffeln wächst, welche mit 2 Proz. Traubenzucker durchtränkt sind, so finden sich im Innern der Zellen große, oft runde Körner, welche bisweilen wie Sporen aussehen, aber nicht keimen, wie ich durch Beobachtung in der feuchten Kammer sicher feststellen konnte und im Gegensatz zu Sporen sich mit Jodlösung schnell tief gelb-braun färben.“ Hartleb (1899. p. 706) stellt die Frage auf, ob das Alinitbakterium eine selbständige Art repräsentiere und sagt: „Stoklasa glaubte den *Bacillus ellenbachensis* α direkt mit dem *Bacterium megatherium* identifizieren zu sollen, während Lauck behauptet, das fragliche Bakterium sei nichts anderes als der schon längst bekannte *Bac. subtilis* Ehrenberg.“ Sodann zeigt Hartleb an den darauf folgenden ausgeführten Vergleichskulturen auf Agar, Gelatine, in Milch und in Fleischbouillon und an den Messungen — Größenverhältnissen — der Stäbchen, daß *Bac. Ellenbachii* nicht mit *Bac. subtilis* oder mit *Bac. megatherium* identisch ist. Frank sagt (1896. Bd. 13): „Nach den bereits vorliegenden Untersuchungen von Stutzer und Hartleb gehört jedoch der *Bacillus ellenbachensis* des Alinit in die Gruppe der Heubacillen, er ist ein Fäulnisbakterium, welches in künstlichen Kulturen Eiweißstoffe zersetzt und Stickstoff verloren gehen läßt, aber keinen elementaren Stickstoff zu assimilieren vermag. Nach den Mitteilungen, welche die eben genannten Herren über die nähere Natur dieses *Bacillus* gemacht haben, ist es mir nicht

zweifelhaft, daß derselbe identisch ist mit dem Spaltpilz, den ich schon 1886 als einen in allen Böden verbreiteten Bodenbacillus nachgewiesen und *Bacillus terrigenus* genannt habe. Die morphologischen Entwicklungsformen, wechselnde Dicke je nach Nährsubstrat, Sporenbildung, Verflüssigungsart der Gelatine, Unfähigkeit aus Ammoniak zu ernähren und solches zu nitrifizieren, die ich bei dem *Bacillus terrigenus* nachgewiesen, alles dies haben Stutzer und Hartleb auch beim *Bacillus des Alinits* gefunden, so daß also der *Bacillus ellenbachensis* ein alter Bekannter wäre und es dieses neuen Namens nicht bedürfte.“ Ueber *Bacillus terrigenus* steht (1886. Heft 11) in der Arbeit von Frank: Ueber die Mikroorganismen des Erdbodens“ folgendes: „Dagegen kam mit regelmäßiger Konstanz ein bestimmter Spaltpilz zum Vorschein und dieser war auch in allen untersuchten Böden ein und derselbe. Auch zeigte er in der Succession seiner Entwicklungsformen stets und in allen Böden im allgemeinen ein und dasselbe Bild. Ungefähr am 2. Tage erscheint der Spaltpilz zuerst in der Form von *Leptothrix*, deren Fäden man aus den Bodenpartikelchen herauswachsen sieht. Auf der Gelatine zeigt er sich als ein zunächst schmaler, aber peripherisch sich immer weiter ausbreitender, weißlich-grauer Raum um jedes Stäubchen von Bodensubstanz, er verflüssigt die Gelatine, so daß die Stelle als eine seicht grubenartige Vertiefung der Oberfläche erscheint, mit welcher sich der Pilz bald kreisförmig, bald mehr strahlig ausbreitet. In Folge lebhaften Wachstums, welches in allen Teilen der Fäden stattfindet, krümmen und verbiegen sich dieselben vielfach und bilden oft regellos durcheinander gewirte Massen, in denen bald an vielen Stellen Einknickungen der Fäden bemerkbar werden.“

„Regelmäßig endigt die Entwicklung mit der Sporenbildung. Es entstehen in der gewöhnlichen Weise innerhalb der Zellen kurz-ovale, sehr stark lichtbrechende Zellen, in jedem Stäbchen eine oder zwei, gewöhnlich in der Nähe des Endes. Sie entwickeln sich sowohl in den isolierten Bacillen als auch wenn dieselben noch zu Reihen oder Fäden verbunden, in letzterem Falle oft das Bild perlschnurförmiger, durcheinander gewundener Ketten darbietend.“

„Die Bacillen können alle Abstufungen von träge taumelnder bis zu lebhaft durcheinander wimmelnder Bewegung zeigen.“

„Beim Beginn der Kultur, also vorzüglich in der Form der *Leptothrix* ist der Spaltpilz und zwar gleichmäßig bei allen Bodenarten von kräftigem Bau, nämlich 1,2 bis 1,8 μ stark.“

Dr. W. Krüger und Dr. W. Schneidewind sagen in ihren „Untersuchungen über Alinit“ 1899. p. 580: „Daß das Präparat eine Reinkultur darstelle, wie dies von verschiedenen Untersuchern desselben scheint angenommen worden zu sein, schließt bereits das Äußere desselben aus, denn sicherlich stellt dasselbe in dieser Form keine Kultur dar. Bei einem solchen Präparat überhaupt von einer Kultur zu reden oder dasselbe sogar mit dem Ausdruck „Reinkultur“ zu belegen, zeugt von ziemlicher Unkenntnis in bakteriologischen Dingen. Unsere Ansicht über diesen Punkt geht dahin, daß die Masse des Präparates entweder durch Eintrocknen von Kulturen gewonnen wurde oder daß eine indifferente Grundsubstanz mit Kulturen, deren Organismen man das vermeintliche Vermögen, den freien Stickstoff der Luft zu assimilieren, zuschreibt, beschickt wurde. In beiden Fällen sind sowohl bei der Präparation als auch beim Einfüllen in die Gläser zum Versand Verunreinigungen nicht zu umgehen, und es kann daher unter Umständen schwer sein, über die beabsichtigten und unbeabsichtigten Bestandteile des Alinits ein Urteil zu fällen.“ „Zum Zwecke der Untersuchung des Alinits in obiger Richtung wurden von verschiedenen Proben des Präparates Aufschwemmungen in sterilisiertem Wasser in üblicher Weise hergestellt und hiermit Nährböden von verschiedener Zusammensetzung geimpft; besonders aber kam hierbei die gebräuchliche, schwach alkalische Pepton-Traubenzucker-Fleischextraktgelatine zur Verwendung. Die beiden ersten uns zur Verfügung stehenden Proben lieferten merkwürdigerweise bei wiederholten Untersuchungen und Anwendung von Nährböden verschiedenster Art nur Schimmelpilzvegetationen, was bei der Widerstandsfähigkeit einer dem Präparat zugesprochenen Bakterienart — es handelt sich um eine endogene sporenbildende Art — verwundern mußte und wofür wir keine über Zweifel erhabene Erklärung gefunden haben. Drei weitere Proben zeigten eine konstante Zusammensetzung dahin gehend, daß außer Schimmelvegetationen (*Penicillium*-Arten) zwei Bakterienarten, eine peptonisierende und eine nicht peptonisierende daraus isoliert werden konnten.“ „Auf eine nähere Charakteri-

sierung der beiden von uns aus Alinit gewonnenen Bakterienarten verzichten wir hier, da dieselbe, wie aus den folgenden Ausführungen hervorgehen wird, zwecklos erscheint.“ „Erwähnt sei nur noch, daß die peptonisierende Art allem Anscheine nach mit einer von mehreren Untersuchern aus dem Alinit isolierten Art übereinstimmt, wir sehen jedoch davon ab, uns in Betrachtungen über die Artzugehörigkeit zu ergehen. Wenn sich eine Anzahl bakteriologisch arbeitender Untersucher doch der Schwierigkeiten, die die Artbestimmung der Bakterien bei dem heutigen Stande der Bakteriologie bietet, bewußt werden möchten, sicherlich würden sie dann nicht aus ganz unwichtigen Veranlassungen die unvollständigen früheren Beschreibungen von Bakterienarten noch um weitere dieser Art vermehren. Der bis jetzt geführte Streit über den Bacillus im Alinit, ob Bac. Ellenbachii oder Bac. megatherium oder Bac. subtilis, bildet eine höchst unnötige Beschäftigung vor der Hand.“

Nach dem soeben Referierten fehlt bis jetzt eine genaue Beschreibung von Bacillus ellenbachensis, welche gestattet, den Pilz stets sicher wiederzuerkennen.

Die Kultur einer Species, welche ich zuerst auf Brassica Napus esculenta und später auch auf den meisten anderen der von mir untersuchten Pflanzenteile aufgefunden hatte, entsprach nur teilweise den vorliegenden Beschreibungen von Bac. ellenbachensis. Trotzdem lag die Vermutung nahe, daß der gefundene Bacillus Bac. ellenbachensis sei. Daher führte ich vergleichsweise Untersuchungen aus mit Kulturen von Bac. ellenbachensis, die von Herrn Prof. Stutzer und von der Firma Bayer & Co., Elberfeld früher gelegentlich Herrn Prof. Meyer, überlassen waren; gleichzeitig benutzte ich noch eine Kultur, welche ich durch die Liebenswürdigkeit des Herrn Rittergutsbesitzer Caron aus Ellenbach erhalten hatte. Diese letztere Kultur war auf einer Kartoffelscheibe gezüchtet und zeigte viele abgestorbene Stäbchen. Herr Caron teilte mir bei der Uebersendung dieser Kultur folgendes mit: „Anbei auf Wunsch Kultur des hier von mir weiter gezüchteten Alinitbacillus“.

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Monilia sitophila (Mont.) Sacc., ein technischer Pilz Javas.

Von F. A. F. C. Went.

Mit einer Tafel.

Im Westen Javas findet man, wo die Bevölkerung aus Sunda-nesen besteht, auf jedem Markte kleine orangefarbige Kuchen zum Verkaufe angeboten, welche unter dem Namen Ontjom als Leckerbissen gegessen werden. Bei genauer Betrachtung stellt sich heraus, daß dieselben aus Samen der Erdnuß (*Arachis hypogaea* L.) bestehen, welche durch und durch verpilzt und an der Oberfläche durch die Conidienträger des Pilzes bedeckt sind. Die orange

Farbe ist dem Mycelium und den Conidien dieses Pilzes zuzuschreiben.

Warum wird dieser Pilz technisch benutzt, welche Veränderungen erleiden die Arachis-Samen durch denselben? Diese Frage wurde mir von Herrn Dr. A. G. Vorderman gestellt, und während meines Aufenthaltes auf Java habe ich auch eine Untersuchung darüber angefangen. Es stellte sich bald heraus, daß es sich um eine Monilia-Art handelte; als ich aber Kulturen davon anfertigte, wuchsen dieselben in dem feuchtwarmen Klima Javas so üppig, daß die Conidien sich außerhalb der Baumwollenpfropfen oder der Glasschalen zeigten, und wegen der Gefahr der Infektion anderer Kulturen die Sache vorläufig aufgegeben wurde. Als ich nach Europa zurückgekehrt war, wurde die Frage wieder aufgenommen, da hier das Wachstum viel weniger üppig und eine Infektion anderer Kulturen nicht zu befürchten war.

Das Untersuchungsmaterial erhielt ich durch Herrn Dr. Vorderman, dem wir schon so Viel für die Kenntnis der technischen Pilze Javas verdanken, die Bestimmung der Art geschah unter freundlicher Mithilfe des Herrn C. A. J. A. Oudemans.

Ich will hier Einiges über Morphologie und Ernährungsbedingungen des Pilzes mitteilen; in einer vorläufigen Mitteilung¹⁾ habe ich außerdem noch kurz die Resultate meiner Untersuchung über Farbstoff- und Enzymbildung des Pilzes angegeben, worüber ich an anderer Stelle ausführlicher berichten werde.

1. Morphologie.

In einer Nährflüssigkeit oder im Inneren eines festen Nährsubstrates bildet der Pilz ein reich verzweigtes Mycelium, aus septierten Hyphen gebildet, welche je nach Art der Nahrung eine verschiedene Dicke besitzen. Außerhalb des Nährsubstrates bilden sich in der Luft die Conidienträger. Diese sind reichlich baumförmig verzweigt und tragen die einfachen oder verzweigten Ketten von Conidien (Fig. 1). Wo viel Nahrung vorhanden ist, stehen die Conidienträger oft zu größeren Gruppen vereinigt beisammen, wodurch strauchartige Bildungen entstehen; ist die Nahrung spärlicher, so bleiben sie einzeln und hängen dann z. B. an der Wand der Kulturkolben oder -Dosen fransenartig herunter. Die Conidien entstehen, indem ein Ast des Conidienträgers durch Zellwände geteilt wird und darauf die einzelnen Zellen sich abrunden und loslösen; daneben findet aber auch Sprossung dieser Conidien statt, während sie noch als Kette zusammenhängen, wodurch verzweigte Ketten entstehen. Die Sprossung muß wohl als verfrühte Keimung aufgefaßt werden. Die Form der Conidien ist verschiedene, ziemlich selten kugelförmig, meistens indessen mehr gedehnt eiförmig bis cylindrisch, bisweilen auch mehr unregelmäßig (Fig. 2). Die Zwischenwand ist anfänglich gleichmäßig dünn, verdickt sich aber bald und zwar im Centrum am meisten, an der Peripherie

1) Zittingsverlag der Koninklijke Akademie van Wetenschappen van 26 Jan. 1901. Amsterdam.

am wenigsten, wodurch sie zu einer bikonvexen Linse wird. In der Mitte dieser Zellwand differenziert sich allmählich eine anders lichtbrechende Schicht (Fig. 3); hier lösen sich die angrenzenden Conidien voneinander, bleiben aber noch einige Zeit durch ein aus dieser Mittellamelle hervorgegangenes Zwischenstück verbunden (Fig. 4). Meistens ist die Trennungslinie, nachdem sie sich losgelöst, ganz glatt, einige Male aber sah ich dieselbe als unregelmäßig gezähnelte Linie (Fig. 5). Die Größe der Conidien ist ziemlich abwechselnd (von 5—14 μ Durchmesser).

Die Conidienbildung wird stark beeinflusst durch den Wassergehalt der Luft. Dafür sprechen schon die oben mitgeteilten Erfahrungen bei der Kultur im feuchttropischen Klima Javas. Ebenfalls sieht man dasselbe, wenn man Kulturen auf sehr konzentrierten Nährlösungen vergleicht mit solchen, welche mehr verdünnt sind. Im ersteren Falle entwickelt sich, wie wir bald sehen werden, ein ungemein kräftiges Mycelium, aber dasselbe erhebt sich kaum über die Oberfläche der Flüssigkeit, es werden fast keine Conidien gebildet, während umgekehrt aus dem viel schwächeren Mycel in sehr verdünnten Lösungen sich eine große Menge Conidienträger in die Luft erhebt und Conidien bildet; die Ursache davon liegt wahrscheinlich in der geringeren Dampfspannung der konzentrierten Nährlösung. Direkte Versuche bewiesen die Richtigkeit dieser Auffassung. In 4 ganz gleiche Kolben wurden je 250 ccm derselben Nährlösung (enthaltend 5 Proz. technische Glukose, 0,5 Proz. KNO_3 , 0,1 Proz. KH_2PO_4 und 0,05 Proz. MgSO_4) gebracht und nach der Sterilisation geimpft mit Conidien unseres Pilzes. Die Kolben wurden hintereinander aufgestellt und ein Luftstrom über die Oberfläche der Flüssigkeiten geführt. Die darüber streichende Luft war im ersten Kolben Laboratoriumsluft; es bildeten sich hier ziemlich viele Conidien. Diese Luft wurde weiter durch den zweiten Kolben geführt (wobei sie schon etwas mehr Wasserdampf enthielt durch die Verdunstung im ersten Kolben); die Conidienbildung war hier etwas stärker. Darauf wurde die Luft durch Wasser geführt, bevor sie in den dritten Kolben trat; hier fand jetzt eine sehr starke Conidienbildung statt, besonders unter dem Einströmungsrohr der Luft, wo die Conidienträger fast hineinwuchsen. Endlich wurde die hier austretende Luft über Chlorkalcium getrocknet und in den vierten Kolben geführt. Hier bildete sich ein kräftiges untergetauchtes Mycelium, wovon einige Hyphen auch an die Flüssigkeitsoberfläche krochen, aber keine Spur von Conidienträgern. In geschlossenen Gefäßen, wo man den Boden mit Wasser (Kulturflüssigkeit) bedeckt hat und die Wände belegt mit nassem Filtrierpapier, bilden sich die Conidienträger prachtvoll aus, an allen Seiten vom Papier herabhängend. Klebs hat für *Sporodinia grandis* gezeigt¹⁾, daß die Transpiration eine Bedingung für die Bildung der Sporangien ist. Hier liegen die Verhältnisse also scheinbar etwas anders, demgegenüber werden aber am unter-

1) Klebs, G., Zur Physiologie der Fortpflanzung einiger Pilze. I. *Sporodinia grandis*. (Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. XXXII. 1898. p. 1.)

getauchten Mycelium, wo keine Transpiration stattfindet, keine Conidien gebildet; hierbei kann nicht an einen Einfluß der Sauerstoffentziehung gedacht werden, weil andererseits in anaëroben Kulturen der Pilz dennoch Conidien in einer Stickstoffatmosphäre bildet. Da jedenfalls Klebs zugegeben werden muß, daß auch im dunstgesättigten Raume eine geringe Transpiration stattfindet durch die Eigenwärme der Pflanze, so scheint es mir, daß die Bedingung für die Conidienbildung in diesem Falle gegeben ist, wenn die Transpiration sehr gering ist; wird dieselbe zu groß, so wird die Conidienbildung unterdrückt, was ebenfalls geschieht, wenn durch Untertauchung in eine Flüssigkeit die Transpiration ganz unmöglich gemacht wird.

Der Pilz besitzt wahrscheinlich noch eine zweite Fortpflanzungsart. In alten Kulturen, welche kräftig ernährt waren, findet man sowohl in dem Nährsubstrat als am Luftmycel (besonders an der Glaswand der Kolben) kleine braune Punkte von 0,1—0,2 mm Durchmesser, welche den Eindruck von jungen Peritheciën machen. Ihre Entwicklung fängt an mit einer schraubenförmig gewundenen Hyphe, woraus bald Verzweigungen hervorsprossen, welche sich zu einem dichten Hyphenknäuel verschlingen; in den Figg. 6—9 sind einige Stadien dieser Gebilde gezeichnet worden. Leider ist es mir aber nicht gelungen, diese zu weiterer Entwicklung zu bringen, welche Nahrung auch gegeben wurde. Ich versuchte auch die Klebs'sche Methode¹⁾ der Nahrungsentziehung, indem kräftig genährte Mycelien in Wasser gebracht wurden, aber ebenfalls ohne Erfolg.

Ich muß also darauf verzichten, die wirkliche Stellung des Pilzes im System anzugeben. Wir werden also zeitweise die Conidienform unter den unvollkommenen Pilzen unterbringen müssen, und da ist aus den oben mitgeteilten Merkmalen ersichtlich, daß er zu *Monilia* gehört, während die Art wahrscheinlich identisch ist mit *Monilia sitophila* (Mont.) Sacc. Von Saccardo wird angegeben, daß dieser Pilz wild aufgefunden ist in Lyon auf Brotteig und Weizenmehl. Dieser Fundort stimmt gut mit den Eigenschaften unseres Pilzes, der Stärke sehr energisch verzuckert. Ich selbst fand *Monilia sitophila* in wildem Zustande auf toten Blattscheiden des Zuckerrohrs in der Residenz Pekalongan auf Java, also an einem Orte, wo die Ontjomkuchen gänzlich unbekannt sind.

Kurz bemerkt mag hier noch werden, daß derjenige Teil des Pilzes, welcher sich in der Luft entwickelt, eine hell-orange Farbe besitzt; wie schon in meiner vorläufigen Mitteilung angedeutet wurde und an anderer Stelle näher besprochen werden soll, bildet sich dieser Farbstoff, ein Karotin, nur unter dem Einflusse des Lichtes. Unter dem Mikroskop erscheinen die Hyphen und Conidien kaum gefärbt, und es wird darum schwierig, die Frage zu beantworten, wie der Farbstoff in der Zelle vorkommt. Es scheint

1) Klebs, G., Zur Physiologie der Fortpflanzung einiger Pilze. II. *Saprolegnia mixta* de Bary. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXXIII. 1899. p. 517.)

mir aber, daß derselbe in sehr kleine Tropfen im Protoplasma verteilt ist; bisweilen sammeln sich diese zu größeren, welche dann leicht sichtbar sind.

2. Ernährungsbedingungen.

Monilia sitophila ist ein omnivorer Saprophyt, welcher sich auf sehr verschiedenem Nährboden reichlich entwickelt. Eine sehr üppige Kultur erhält man z. B. auf Reis, *Arachis*-Samen, Brot, Wurzeln von *Daucus Carota*, Milch, Fibrin, Fleischbrühe, Pflaumen- und Rosinendekokt, etwas weniger, wenn auch noch sehr kräftig, entwickelt sich der Pilz auf Kartoffeln, Äpfeln, koaguliertem Hühnereiweiß (alle diese Nährböden in gekochtem, sterilisiertem, sehr wasserhaltigem Zustande).

Zur besseren Kenntnis der Ernährungsbedingungen wurden eine Reihe Versuche angestellt mit sehr verschiedenen Nährflüssigkeiten von genau bekannter Zusammensetzung. Ein für allemal mag dabei bemerkt werden, daß diesen Flüssigkeiten als anorganische Nährsalze immer zugesetzt wurden 0,1 Proz. Kaliumphosphat (meistens Mono-, bisweilen Dikaliumphosphat) und 0,05 Proz. Magnesiumsulfat. Ein Teil der Versuche wurde gemacht, um zu untersuchen, ob der Pilz bestimmte Nährstoffe überhaupt benutzen kann, während die Menge des gebildeten Myceliums nach dem Augenschein beurteilt wurde.

Es giebt Substanzen, welche sowohl den C- als den N-Bedarf unseres Pilzes befriedigen können, so daß derselbe mit einem Stoffe als Nahrung auskommen kann. Darunter muß in erster Linie genannt werden Pepton, welches eine sehr kräftige Entwicklung des Pilzes bedingt. Mit einigen anderen stickstoffhaltigen organischen Körpern vermag unsere *Monilia* sich zwar als alleinige Nahrung zu behelfen, indessen in viel geringerem Maße, so daß der Einfluß einer nebenbei gegebenen Kohlenstoffquelle leicht untersucht werden konnte; es sind Asparagin, Tyrosin, Glykokoll und Asparaginsäure. Dagegen können Harnstoff, valeriansaures Ammonium, Kreatin, Alanin, Leucin und Hippursäure nicht als alleinige Kohlenstoff- und Stickstoffnahrung verwendet werden. Fragen wir nach der Stickstoffnahrung, wenn eine gut nährnde C-Verbindung (Glukose) sich außerdem in der Kulturflüssigkeit befindet, dann lassen sich die stickstoffhaltigen Substanzen (abgesehen von Albumin, Casein, Pepton) in folgende Reihe gliedern, welche mit den am besten ernährenden anfängt: Tyrosin, Asparagin, Asparaginsäure, Kaliumnitrat, Ammoniumsulfat und -nitrat, Kaliumnitrit, Leucin, Glykokoll, Harnstoff.

Der Nährwert verschiedener Kohlenstoffverbindungen wurde in der oben angegebenen Weise ermittelt durch Schätzung der Ernte, wenn eine anorganische Stickstoffquelle (meistens KNO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ oder NH_4NO_3) vorhanden war. Dabei ergab sich, daß unter den C-Quellen an erster Stelle genannt werden müssen die Kohlehydrate, darunter ganz besonders Raffinose, Maltose, Stärke, Dextrin und Cellulose, etwas weniger d-Glukose, d-Fruktose, Milchsucker, noch weniger Saccharose und Inulin. Eine ziemliche Ent-

wickelung erreicht der Pilz, wenn ihm als C-Nahrung geboten wird (in absteigender Reihe): Essigsaures Kalium, Mannit, Glycerin, milchsaures Natrium, apfelsaures Kalium, Aethylalkohol, Aethylacetat und weinsaures Kalium, während kaum als Nahrung benutzt werden Buttersäure, Bernsteinsäure, Citronensäure (als Na-Salze) und gar nicht die K-Salze der Ameisensäure und der Benzoësäure. Fette, z. B. Butterfett, Arachis-Oel, Olivenöl, können zwar zur Ernährung des Pilzes dienen, indessen findet hier ein äußerst langsames Wachstum statt.

Die Ernährungsverhältnisse werden am besten untersucht bei der Optimumtemperatur; diese liegt ungefähr bei 30° C. Der Pilz kann zwar gezogen werden bei der gewöhnlichen Zimmertemperatur von 15—18° C, indessen ist sein Wachstum dann langsam und jedenfalls entwickelt er sich dann nur, wenn ihm eine gute Nahrung gegeben wird. Bei dieser niedrigen Temperatur findet z. B. gar kein Wachstum statt, wenn unter den oben genannten Substanzen Aethylalkohol, Milchsäure, Weinsäure, Buttersäure, Bernsteinsäure und Citronensäure als C-Quelle in der Nährflüssigkeit vorhanden sind.

In einer Anzahl von Fällen wurde die erhaltene Pilzmenge gewogen. Die Versuche hatten zwar meist einen anderen Zweck (nämlich die Erforschung irgend eines Zusammenhanges zwischen der Entwicklung des Pilzes und der abgeschiedenen Enzymmenge), sie können uns aber doch ein ungefähres Bild der Ernährungsverhältnisse geben.

Die Kulturen wurden immer vergleichsweise derart gemacht, daß je 10 oder 20 gleichgroße Kolben eine gleiche Flüssigkeitsmenge erhielten, zusammen sterilisiert wurden, darauf geimpft mit einem kleinen Stückchen Mycelium, aus derselben Kultur stammend, und hierauf in den Thermostaten gestellt wurden, bei einer Temperatur, welche zwischen 30 und 31° C wechselte. Nach einer bestimmten Anzahl von Tagen wurden die Flüssigkeiten abfiltriert, die Pilzmengen auf abgewogene Filter gesammelt, gut mit Wasser gewaschen, über Schwefelsäure bei Zimmertemperatur getrocknet und gewogen, nachdem das Gewicht konstant geworden war.

Hierbei ergeben sich nun verschiedene Fehlerquellen. Es wäre viel besser gewesen, wenn alle Versuche zu gleicher Zeit angestellt wären; das war aber leider ganz unmöglich, da ich kein Zimmer für hohe konstante Temperaturen besitze und der Thermostat nur Raum bot für verhältnismäßig wenig Kulturen; bei niedrigen Temperaturen darf der Versuch, wie oben gesagt, nicht angestellt werden. Das Aussaatmaterial war nicht vollkommen gleichmäßig; man wird sich vielleicht wundern, warum ich nicht eher von einer bestimmten Conidienzahl ausgegangen bin; indessen würde das die Sache nicht verbessert haben. Wie ich schon mitgeteilt habe, sind die Conidien sehr verschieden an Größe; nun stellte sich bald bei Deckglaskulturen heraus, daß ebenfalls große Verschiedenheiten vorkommen in Betreff der Schnelligkeit der Keimung, Stärke des gebildeten Myceliums u. s. w. Nimmt man eine Anzahl Conidien, dann hat man mit der Schwierigkeit zu thun, daß dieselben sehr

schwer benetzt werden, auf der Oberfläche des Wassers treibend bleiben und sich zu Klumpen vereinigen, welche nicht leicht zu trennen sind. Darum habe ich der Einfachheit wegen mich begnügt mit der Impfung einer kleinen Menge des Myceliums, wobei darauf geachtet wurde, daß dieselbe bei jedem Versuch ungefähr gleich groß war und derselben Kultur entnommen wurde. Letzteres ist sehr notwendig, da man sonst große individuelle Verschiedenheiten vorfindet. Deshalb sind auch die Gruppen von Versuchen, welche zu verschiedenen Zeiten gemacht wurden, nicht vollkommen vergleichbar.

Was die Ernte anbetrifft, so entstanden bisweilen leichte Niederschläge in den Kulturkolben, welche mit der Pilzmenge mitgewogen wurden; das ergab aber Fehler von höchstens einigen Milligrammen, welche beim Vergleich der Zahlen außer Betracht bleiben können. Wann muß man aber ernten? Bei vergleichenden Versuchen habe ich immer nach einer bestimmten Anzahl von Tagen (10—30) alle Mycelien zu gleicher Zeit geerntet, obwohl ich mir bewußt war, daß hierbei ein genauer Vergleich der Zahlen nie möglich sein wird. Man müßte eigentlich für jede Substanz, deren Nährwert man ermitteln will, die täglich gebildete Pilzmenge messen und dieselbe dann vergleichen, wenn die Ernte ihren Höhepunkt erreicht hat; ist der Versuch kürzer, dann bekommt man natürlich Zahlen, welche zu niedrig sind, dauert er länger, dann stirbt ein Teil des Myceliums ab und wird von dem übrig gebliebenen Teil teilweise als Nahrung benutzt, so daß man auch in diesem Falle zu niedrige Zahlen erhält. Bei verschiedenem Nährwerte der Substanzen wird dieses Optimum nicht in derselben Zeit erreicht werden.

(Schluß folgt.)

Referate.

Bokorny, Th., Einige Beobachtungen über das Gärungsferment der Hefe. (Zeitschr. f. Spirit.-Ind. Bd. III. 1901.)

Daß die Zymase das Eintrocknen einige Zeit erträgt, wurde schon von E. Buchner festgestellt; er giebt an, daß sich bei 30° eingetrockneter Hefepreßsaft 3 Wochen lang unverändert erhält. Wird der Trockenrückstand innerhalb dieser Zeit in dem 5-fachen Gewichte Wasser gelöst und die Lösung filtriert, so enthält das Filtrat das Enzym im wirksamen Zustande.

Verf. fand in 8 Wochen lang trocken im Wärmeschrank (neben konzentrierter Schwefelsäure gelegener) Preßhefe noch wirksame Zymase vor, wenn auch die Wirkung keine so kräftige mehr war.

Gegen Säuren ist sie mäßig empfindlich. Wird frische Preßhefe 24 Stunden lang in 0,5- oder 0,1- oder 0,02-proz. Schwefelsäure belassen, so geht nur durch die 0,5-proz. Säure das Gärvermögen dauernd verloren. Sogar wenn Dextrose direkt zu der 0,1-proz. Säurelösung gesetzt wird, findet noch etwas Gärung statt. Binnen

5 Tagen aber tötet 0,1-proz. Schwefelsäure die Zymase ab. Essigsäure ist ein geringeres Gift. Hefe, welche 24 Stunden lang in 0,5- oder sogar 1-proz. Essigsäure gelegen hat, ist noch gärkräftig, wenn das Gift entfernt wird. Dauert die Einwirkung der 1-proz. Essigsäure aber 5 Tage, so ist damit die Zymase getötet, d. i. dauernd unwirksam gemacht. Auch 0,5-proz. Essigsäure wird nicht 5 Tage lang ertragen. Salzsäure tötet bei 0,5 Proz. binnen 24 Stunden völlig, bei 0,2 Proz. aber nicht ganz. Oxalsäure ist stärker giftig für die Zymase als die Essigsäure und etwas schwächer giftig als Salzsäure. Buttersäure und Baldriansäure sind für Zymase nicht stärker schädlich, als ihrem Säurecharakter entspricht, während sie dem Hefeprotoplasma sehr schädlich sind.

Natriumhydroxyd wirkt in der Konzentration 0,5 Proz. schädlich auf Zymase ein binnen 24 Stunden, 0,1 Proz. scheint binnen dieser Zeit nicht merklich zu schaden. Sogar durch 1-proz. Lauge wird die Zymase binnen 24 Stunden nicht ganz vernichtet, wohl aber binnen 5 Tagen.

Protoplasmagifte, wie Formaldehyd, Silbernitrat, Sublimat, sind auch für die Zymase sehr schädlich. Formaldehyd vernichtet bei 0,1 Proz.; Silbernitrat bei 0,01 Proz.; Sublimat bei 0,02 Proz. binnen 24 Stunden.

Karbolsäure tötet bei 1 Proz. binnen 24 Stunden; 0,1 Proz. schadet nicht merklich in dieser Zeit.

Mit Terpentinöl geschütteltes Wasser (ungefähr 1:75 000) vernichtet bei 10-stündiger Einwirkung das Gärungsvermögen der Hefe. Auch für Pilzprotoplasma ist dasselbe bekanntlich sehr schädlich. Autorreferat.

Dehérain und Demoussy, Sur la culture des lupins blancs.
(Comptes rendus hebdomad. de l'Acad. d. Sc. Paris 1900. T. CXXX. p. 20—24.)

— —, Sur la culture des lupins bleus (*Lupinus angustifolius*). (Ibid. p. 465—468.)

Die Entwicklung der weißen Lupinen blieb in allen Fällen eine mittelmäßige, so lange Bakterien von den Kulturen ausgeschlossen waren. Die Knöllchen, die unter Einwirkung von Bakterien an den Wurzeln der Leguminosen sich bilden, sind in Form und Größe sehr verschieden: ihre Ausbildung steht in direkter Beziehung zum Stickstoffgehalt der betreffenden Pflanzen. Den höchsten N-Gehalt (3 Proz.) erreichte die Trockensubstanz derjenigen Lupinenpflanzen, deren Wurzeln mit kleinen Knöllchen besetzt waren; Pflanzen mit sehr großen, erdbeerförmigen Knöllchen hatten den geringsten Stickstoffgehalt (0,6—0,8 Proz.). — Die Knöllchen der letzten Art sind offenbar von Bakterien bewohnt, die in den infizierten Geweben ein reines Parasitenleben führen und nicht im Dienste der Lupinenpflanzen arbeiten.

Geringe Erfolge mit der Kultur weißer Lupinen werden nicht durch den Kalkgehalt des Bodens, sondern durch das Fehlen geeigneter Bodenbakterien zu erklären sein.

Ohne Mitwirkung von Bakterien bleiben auch die blauen Lupinen zur Verwertung des atmosphärischen Stickstoffes ungeeignet. Gleichwohl können sie auch ohne Bildung von Wurzelknöllchen ihre normale Entwicklung erreichen, wofür ihnen durch die Thätigkeit von Bodenbakterien die nötigen N-Verbindungen zur Verfügung gestellt werden.

Ebenso wie in den Knöllchen der weißen Lupinen sind auch in den der blauen Bakterienarten anzutreffen, die nicht in Symbiose mit der Leguminose, sondern rein parasitisch in ihr leben. Die zur Symbiose befähigten Bakterien sind in Ackererde anscheinend selten, häufiger in Haideboden anzutreffen.

Küster (Halle a. S.).

Harz, C. O., Ueber einige Schimmelpilze auf Nahrungs- und Genußmitteln. (Sitzungsberichte der Gesellschaft für Morphologie und Physiologie in München. Bd. XVI. Heft 1. p. 36—38.)

Die von Harz aufgestellte Gattung *Actinomyces* ist neuerdings mehrfach, z. B. von Sauvage und Radais, Lehmann und Neumann u. A. m., zu *Oospora* gezogen worden, eine Vereinigung, gegen die sich Verf. zunächst unter kurzer Darlegung seiner Gründe wendet.

Sodann macht Verf. Mitteilung über die technische Anwendung der *Oospora otophila* bei der Käsebereitung (Camembert) und über sein Vorkommen auf getrockneten Zwetschgen und Pflaumen, Birnen, Feigen, Rosinen, Trockenwürsten u. s. w. Auch eine neue *Oospora*, *O. rubens* Harz, wurde auf Pflaumen und verdorbenem Heu gefunden; *O. Flagellum* auf Heu und Stroh, aber auch auf Leinkuchen.

Monilia candida endlich auf Kranzfeigen, getrockneten Pflaumen, Heu und Allgäuer Käse. Appel (Charlottenburg).

Lüstner, G., Ueber eine neue Gallmücke des Weinstockes, *Clinodiplosis vitis* nov. spec. (Entomol. Nachr. Jahrg. XXVI. 1900. p. 81—85. 1 Taf.)

Die Larven der beiden auftretenden Generationen führen eine saprophytische Lebensweise, und zwar findet sich die erste im Juni—Juli auf braunen Flecken der Blätter, die der zweiten in den beiden folgenden Monaten auf der Unterseite welcher Blätter und in kranken, sauerfaulen oder edelfaulen Beeren. Ihr Winterquartier sind die Wollhaare der Knospen. Imagines ließen sich während des ganzen Herbstes erziehen. Die Eier sind orange-farbig, ca. $\frac{1}{3}$ mm lang und länglich-rund; sie waren auf den braunen Flecken der Blätter zu finden. — Die eingehende Beschreibung der übrigen Stadien eignet sich nicht zum Auszuge.

Arnold Jacobi (Berlin).

Nüßlin, Die Tannenwurzellaus, *Pemphigus* (*Holzneria*) *Poschingeri* Holzner. (Allg. Forst- u. Jagdztg. N. F. Jahrg. LXXV. 1899. p. 402—405. 7 Fig.)

Das Vorkommen der 1874 zuerst beschriebenen Laus beschränkt sich anscheinend auf gewisse Coniferenarten, insofern als Nordmannstanne, Fichte, Douglasfichte und Weymouthskiefer bisher auch bei Nachbarschaft mit befallenen Bäumen anderer Arten verschont blieben. Der Schädling scheint sich in Baden seit 1898 bedeutend auszubreiten; über seine Lebensgewohnheiten hat N. in Erfahrung gebracht, daß er mehr oder weniger primär ist und deutlich kränkelnde Pflanzen meidet; zweitens verbreitet sich die Laus nur langsam von Pflanze zu Pflanze und die befallene Pflanze geht nur allmählich durch das Saugen zu Grunde. Endlich ist die Urheberschaft für den Nichtkenner nicht besonders leicht oder gar sicher zu erkennen, da welkende und vollends eingegangene Pflanzen von der lebenden Laus verlassen werden. Die Beobachtungen des Verf.'s über die Lebens- und Verwandlungsgeschichte sind infolge davon nicht lückenlos, als es ihm nicht zu ermitteln gelang, ob aus dem befruchteten Winterei direkt die junge Wurzellaus hervorgeht oder eine anders geardete und anders lebende Generation (Gallenerzeugerin?). Doch sprechen die Erfahrungen und die Analogie mit anderen Pflanzenläusen dafür, daß wahrscheinlich zwei parallele Entwicklungsreihen verlaufen, eine rein parthenogenetisch zeugende (für welche das während des ganzen Jahres stattfindende Vorkommen lebender Läuse von allen Größen spricht) und eine komplizierte heterogenetische. Letzterer Cyklus gliedert sich 1) in die parthenogenetische ungeflügelte Fundatrix, 2) die parthenogenetische geflügelte Sexupara und 3) die ungeflügelte gamogenetische Sexualis, die das Winterei erzeugt. Aus den eingehenden Mitteilungen über Bau und Metamorphose ist als besonders merkwürdig die Entdeckung eines besonderen Sinnesorganes hervorzuheben, welches nur das erste Stadium besitzt, und dem N. bei der erheblichen Beweglichkeit und Neigung zur Ortveränderung desselben eine orientierende Funktion zuschreiben möchte. Es liegt paarig links und rechts am Schnabelgrunde nahe der Fühlerbasis, unmittelbar am vordersten, und untersten Teile des Gehirns, ist fast kugelig und gestielt. Die Sinneszellen im Innern der von zarter Chitinhaut umschlossenen Kugel setzen sich, faserförmig den Stiel durchlaufend, nach dem Gehirn fort. — Die Geschlechtstiere sind wie bei vielen Pemphigiden verkümmert und zwerghaft, Fühler und Beine kurz und plump. Der Rüssel fehlt fast völlig. Das Innere des Weibchens wird fast völlig von dem einen riesigen Ei, dem kleinen, vorn aufsitzenden Keimfach und den hinten gelegenen Ausführwegen ausgefüllt. Arnold Jacobi (Berlin).

Sorauer, P., „Der Vermehrungspilz“. (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. Bd. IX. Heft 6. p. 321—328. 1 Tafel.)

Der früher für eine *Mortierella* gehaltene Vermehrungspilz, über den zuletzt Aderhold in der Gartenflora eingehendere Mitteilungen gemacht hat, wurde von Sorauer weiter untersucht. Derselbe beobachtete sowohl an frischem Materiale auf *Tradescantia* und *Pelargonium*, wie auch auf sterilisiertem Brote die Bildung der

Sclerotien, die durch die Zusammenlagerung von sehr gleichmäßigen, braungefärbten Hyphen entstehen. Diese Hyphen erinnern sehr an *Monilia*-Ketten, in die sie auch am Rande des Sclerotiums übergehen. Beim Einlegen eines infizierten Blattes in ein warmes Vermehrungsbeet überzog, solange reichliche Nahrung, Wärme und Feuchtigkeit vorhanden war, die schlanke, weithin kriechende Mycelform, die zunächst an einzelnen Stellen Haufen von *Monilia*-Aesten bildet. Mit dem Nachlassen der Wachstumsintensität vermehren sich die perlschnurartigen Formen und treten zu dunkelen, sich bräunenden, sclerotialen Gruppen zusammen.

Der Pilz ist im Februar und März am meisten schädlich, Ende März dagegen beginnt er in seiner Vegetationskräftigkeit nachzulassen und dann scheint er auch nicht mehr imstande zu sein, gesundes, nicht verändertes Gewebe zum Absterben zu bringen. Ein solches Nachlassen der Vegetationskraft zeigt sich auch darin, daß die Uebertragung des Pilzes auf sterilisiertes Brot, die im Februar leicht gelungen war, Ende März nur noch ganz kümmerliche Kulturen lieferte.

Versuche die gewohnten Fungiciden zur Bekämpfung der Kalamität zu verwenden, haben kein günstiges Resultat ergeben, wenigstens insoweit man ein Besprengen mit Kupfermitteln oder Bestäuben mit Schwefel dabei im Auge hat. Dagegen ließ sich eine infizierte Stelle isolieren durch Umgebung derselben mit einer dicken Schicht Kupferschwefelkalk, durch die ein wirksames Uebergreifen des Pilzes auf gesunde Teile des gleichen Kastens verhindert werden konnte. Es wurden zwar auch hierbei Fäden in dem gesunden Teile des Beetes aufgefunden, dieselben zeigten sich jedoch durch das Mittel so beeinflußt, daß sie einen Schaden nicht mehr anrichteten. Am zweckmäßigsten bleibt freilich ein Umbauen verseuchter Vermehrungsbeete und Ersetzen der Holzteile durch Cement, da die Sclerotien des Pilzes besonders im Holzwerk übersommern.

Appel (Charlottenburg).

Matzdorff, Pflanzenkrankheiten der Staaten Georgia und Florida. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1900. p. 347.)

Es handelt sich bei dieser Uebersicht hauptsächlich um Krankheiten tropischer Nutzpflanzen. Bataten, Cassave, Ramie, Feigen etc. werden von einer ganzen Anzahl von Raupen und Läusen heimgesucht, gegen die es meist kein anderes Mittel als Verbrennen der betroffenen Pflanzen giebt. Die Tomaten leiden unter mehreren Kerfen und unter der Schwarzfäule, die auf einen *Bacillus* zurückgeführt wird. Cucurbitaceen besitzen eine große Anzahl von Schädigern, denen zum Teil durch Bespritzen etc. beizukommen ist. Endlich werden noch mehrere Krankheiten der Ananas und ihre Heilmittel besprochen.

Linden (Berlin).

Reuss, H., Zur Illustration der Folgenachteile der Schälbeschädigung durch Hochwild im Fichtenbestande. Ueber Anregung des Spezialkomitees für Forstwirtschaft und Holzhandel zur Veranstaltung der Kollektivausstellung Oesterreichs in Gruppe IX der Weltausstellung in Paris 1900 verfaßt. 45 p. Wien 1901.

Eine auf Grund von Beobachtungen und genauen Berechnungen vorgenommene Beleuchtung des Satzes, daß die Schäl Schäden nach Intensität und örtlicher Verbreitung an allen Orten im ablaufenden Jahrhundert in aggressivem Fortschreiten sich befinden und von Jahr zu Jahr an Terrain gewinnen. Verf. steht auf dem schon früher vertretenen Standpunkte, daß die Schäl Schäden nach Beginn und Grad zu dem fortschrittlichen Ausbau des Waldwirtschaftsbetriebes einerseits, zu der dem Wilde im modernen Wirtschaftswalde aufgezwungenen unnatürlichen Lebensweise andererseits, in ganz bestimmte, zu allen Zeiten und an allen Orten nachweisbare Kausalbeziehungen treten. Das einfachste und nächstliegende Schälmotiv ist die Not, der Mangel an guter Aesung oder an bestimmten Bestandteilen derselben, die massige Verabreichung einförmig-ungesunder Futtermittel, speziell des Heues. Nach Charakter, Art und äußerer Form der Beschädigung ist zu unterscheiden die Saft- oder Sommerschälung und die Winterschälung oder das sogenannte Schaben. Letzteres beschränkt sich auf die Zeit der Vegetationsruhe, ihre Folgenachteile wurden meist durch vollständige Ueberwallung ausgeschlossen. Jene dagegen hat immer einen höchst gefährlichen Charakter und übt auf Zuwachs, Holzbeschaffenheit und Bestandessicherheit einen hervorragend nachteiligen Einfluß aus. Infolge direkter Harz- und Saftverluste, welche bis zur eintretenden Ueberwallung der Wundränder stets eintreten müssen, wird nämlich sofort ein Nachlassen der Zuwachsthätigkeit des Baumes bedingt. Zudem bleibt vielfach bei ungünstigen Bedingungen die Wunde 10—20 und mehr Jahre offen, so daß der Weg für die saprophytische und parasitäre Holzersetzung gebahnt ist. Die Holzbeschaffenheit wird durch die Schälung einmal insofern herabgesetzt, als die Wundstellen unter den Erscheinungen der sogenannten „Hartfäule“ absterben, andererseits der Stamm, häufig der Rotfäule verfällt, die dann in den meisten Fällen weit über die Schälstelle hinaufreicht und den von ihr occupierten, wertvollsten Teil des Schaftes für jeden Verwendungszweck untauglich macht. Infolgedessen beträgt die Bodenrente nach einer Versuchsberechnung im geschälten Bestandteile durchschnittlich 4,28 frcs., im nichtgeschälten 15,28 frcs. Eine gefährliche Folge des Schälens ist die geringe Widerstandskraft der befallenen Bestände gegen den Schneebruch, der meist zwischen dem 30. und 45. Jahre eintritt, die Schälbestände durchlöchert und ihr Inneres dem Winde und seiner devastierenden Wirkung öffnet. Die Mittel gegen die Schäl Schäden zerlegt Verf. in 1) beschränkende Mittel, die gegen das Wild selbst gerichtet sind, 2) vorbeugende, angewendet an Baum und Bestand, 3) ebensolche mit subjektiver Anwendung am Wilde selbst, wie Hebung der natürlichen Aesungsverhältnisse, Umgestaltung und Besserung der Fütterung etc. Näher besprochen werden nur die vorbeugenden Bestandes- und Stammschutzmittel, z. B. ein Wundverband, ferner die Verhütung des Schälgriffes durch Anstrich mit übelriechenden Mixturen. Absolut wirksamen Schutz gewährt jedoch nur die Anlage eines schützenden Reismantels, dessen Aufwand durch die

Erhaltung des Stammes überreichlich ersetzt wird. — Die Schrift ist mit einer beträchtlichen Anzahl von Tabellen und Abbildungen nach photographischen Aufnahmen ausgestattet.

Arnold Jacobi (Berlin).

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Schlichting, Zur Bekämpfung des Apfelmehltaues. (Der prakt. Ratgeber im Obst- und Gartenbau. Jahrg. XV. No. 16.)

Verf. weist darauf hin, daß besonders die Zweige Ausgangspunkte für Neuinfektionen bilden und mahnt bei jungen Bäumen zur genauen Beobachtung und baldmöglichster Entfernung und Vernichtung aller befallenen Zweigteile.

Appel (Charlottenburg).

Lilke, Zur Lydakalamität. (Zeitschr. f. Forst- u. Jagdwesen. Jahrg. XXXII. 1900. p. 288—297.)

Die Bekämpfung der großen Kiefernblattwespe wird durch folgende 4 Hauptpunkte erschwert: 1) Die große Zählebigkeit der Larve, zu der ihr das widerstandsfähige Integument verhilft, so daß allenfalls nur sehr starke Platzregen, mehr noch Bloßlegen des Winterlagers durch tiefes Pflügen ihr nachteilig werden (Pflugkammkulturen haben die Plage stark vermindert). 2) Die enorme Vermehrungsfähigkeit. 3) Die Thatsache, daß das Insekt in keinem Lebensstadium namhafte Feinde besitzt, da die Larven nicht von Schlupfwespen befallen zu werden scheinen, Schwarzwild und zahme Schweine aber keine praktische Bedeutung haben. 4) Eine einigermaßen richtige Voreinschätzung der Stärke des Fluges ist zu rechter Zeit kaum möglich. Verf. hält es empirisch für geboten, in Hauptflugjahren bei 15 pro Quadratmeter gefundenen Larven, in Nebenflugjahren bei 20 Stück zum Leimen und anderen Vertilgungsmaßregeln zu greifen. Bei neu auftretender Kalamität sind aber bereits bei 10 pro Quadratmeter Gegenmittel ratsam. — Ueber Fragen biologischer Art wird folgendes mitgeteilt. Die der Regel nach 3-jährige Generation kann durch Sonnenlicht und Wärme auf 2 Jahre oder gar bis auf 1 herabgesetzt werden, wie sich aus Zimmerzuchten und auch aus der Beobachtung ergibt, daß in geschlossenen und schattigen Beständen die 3-jährige Generation weit regelmäßiger innegehalten wird wie auf Kahlschlägen, Räumden oder lichten Beständen. Auch kann in einem Hauptflugjahre mit kalter, trüber Witterung die Menge der schwärmenden Wespen so gering bleiben wie in einem Nebenflugjahre mit warmem, hellem Wettercharakter.

Als zweite charakteristische Eigentümlichkeit des Insektes wird

die anfangs sehr geringe und nur tageweise allmählich zunehmende Flugfähigkeit genannt, die mit der Verschiedenheit der Ablagehöhe der Eier parallel läuft. Beachtenswert ist endlich die auffallende Regelmäßigkeit, mit der die ersten Wespen erscheinen. Starker Wind kann alle Raupen in 1—4 Nächten herabschütteln, wonach es nur etwa 5 Proz. gelingt, sich wieder an den Bäumen emporzuarbeiten. Von Gegenmitteln bewährte sich das Leimen von Pfählen auf Schlägen, bezw. der Bäume mittels je 2 umgelegter, geleimter Pappringe im Bestande. Letztere lassen sich später nochmals zum Einfangen der zum Winterlager sich verlassenden Larven auf dem Erdboden benutzen. Ferner ist Vertilgung der Larven gelegentlich der Stockrodung wichtig, auch das Sammeln der Imagines während der ersten Flugtage verspricht Erfolg. Zwei direkt anzuordnende Mittel: „Waldschutz“ (von Strantz) und „Hallali“ (von Schilling) bedürfen weiterer Erprobung. — Zahlreiche praktische Winke, welche die Arbeit des weiteren enthält, müssen im Originale nachgelesen werden.

Arnold Jacobi (Berlin).

Zimmermann, A., Eenige proeven en waarnemingen over aaltjes. (Teysmannia. 1900. Deel 11. p. 195—204.)

I. Da es für die Bestreitung der Nematoden von Wichtigkeit ist zu wissen, ob dieselben lange Zeit in Wasser leben können, hat Ref. diese Frage eingehend untersucht und gelangte dabei zu dem Resultate, daß der *Tylenchus Coffeae* in verschiedenen Präparaten noch nach 20—30 Tagen, in einem sogar noch nach 40 Tagen am Leben geblieben war. Aehnliche Resultate wurden auch mit *Heterodera radicola* erhalten.

II. Da von anderer Seite behauptet war, daß es möglich wäre, durch einen Brei von unreifen Früchten von *Pangium edule* die in den Kaffeewurzeln enthaltenen Nematoden zu töten, hat Ref. mit der genannten Masse eine größere Reihe von Versuchen angestellt. Es zeigte sich hierbei, daß es allerdings möglich ist, durch den Fruchtbrei die Larven und geschlechtsreifen Tylenchen zu töten. Allerdings sind dazu solche Massen des Giftes nötig, wie sie in der Praxis mit Rücksicht auf die Kosten nicht benutzt werden könnten. Ueberdies wird der Nutzen des Mittels dadurch ganz illusorisch, daß die Eier der Tylenchen in keinem Falle durch dasselbe vollständig getötet wurden.

III. Die Frage, wie tief die Kaffeemematoden im Boden vorkommen können, konnte Ref. dahin beantworten, daß dieselben sicher $\frac{1}{2}$ m tief unter der Erdoberfläche in den Kaffeewurzeln zu finden sind, wahrscheinlich können sie aber noch tiefer in den Boden eindringen. Die Sterilisierung eines infizierten Bodens mit chemischen Mitteln muß somit auf alle Fälle mit ganz bedeutenden Kosten verbunden sein.

Zimmermann (Buitenzorg).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. ARTHUR WÜRZBURG,
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Hanna, W., A modification of the Romanowski-Euge method of staining the plasmodium of malaria and other protozoa. (Lancet. 1901. No. 14. p. 1010.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

- Annett, H. E. and Dutton, J. E.**, A preliminary note on the hibernation of mosquitos. (Brit. med. Journ. 1901. No. 2104. p. 1013.)
- Bokorny, Th.**, Protoplasma und Enzym. (Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. LXXXV. 1901. Heft 4/6. p. 257—270.)
- Bubák, F.**, Ueber die Puccinien vom Typus der Puccinia Anemones virginianae Schweinitz. (Aus: Sitzungsber. d. böhm. Gesellsch. d. Wiss.) gr. 8°. 11 p. m. 1 Taf. Prag (in Komm. Fr. Rivnáč) 1901. 0,40 M.
- Cockerell, T. D. A.**, Diaspis piricola. (Entomol. news. 1901. Jan. p. 27.)
- Cockerell, T. D. A., and King, G. B.**, Notes on Crypticerya Townsendi Kell. (Psyche. Vol. IX. 1901. No. 299. p. 175—177.)
- Cuenot, L.**, Recherches sur l'évolution et la conjugaison des grégaires. (Arch. de biol. T. XVII. 1900. Fasc. 4. p. 581—652.)
- Harden, A.**, The chemical action of bacillus coli communis and similar organisms on carbohydrates and allied compounds. (Journ. of the chemical soc. 1901. May. p. 610—628.)
- Liston, W. G.**, The distribution of Anopheles in Ellichpur Cantonment. (Indian med. gaz. 1901. No. 4. p. 129—132.)
- Melichar, L.**, Ueber das massenhafte Vorkommen von Drosophila ampelophila Löw. (Wien. entomol. Ztg. 1901. Heft 1/2. p. 7—8.)
- Melnikow-Raswedenkow, N.**, Studien über den Echinococcus alveolaris sive multilocularis. Histologische Untersuchungen. (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. Red. v. E. Ziegler. 4. Suppl.-Heft.) gr. 8°. VII, 295 p. m. 94 Abbild. u. 6 Taf. Jena (Gustav Fischer) 1901. 16 M.
- Müller, F.**, Beiträge zur Kenntnis der Grasroste. (Beihefte z. Botan. Centralbl. Bd. X. 1901. Heft 4/5. p. 181—212.)
- Eudow**, Eine Beobachtung an der Honigmotte, Galleria melonella L. (Insektenbörse. Bd. XVIII. 1901. p. 139—140.)
- Speiser, F.**, Zur Kenntnis der geographischen Verbreitung der Ascomyceten-Gattung Helminthophana Peyritsch. (Ber. d. dtsh. botan. Ges. Bd. XVIII. 1901. Heft 10. p. 498—500.)
- Sticker, A.**, Untersuchungen über den Bau und die Lebensgeschichte des Sclerostomum armatum. (Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. 1901. Heft 3/4. p. 187—232.)
- Wolf, M.**, Die Lebensweise des Zwischenwirtes von Malaria. Nach den Beobachtungen von Grassi. (Biolog. Centralbl. 1901. No. 9. p. 278—287.)
- Wright, M. J.**, The resistance of the larval mosquito to cold. Notes on the habits and life-history of mosquitos in Aberdeenshire. (Brit. med. Journ. 1901. No. 2102, p. 882—883.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft und Wasser.

Hunter, W., Neutral red as a means of detecting the presence of the bacillus coli communis in water-supplies. (Lancet. 1901. No. 15. p. 1079.)

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

Schürmayer, E., Ueber die Bakterienflora von Nährpräparaten. (Dtsche Medizinal-Ztg. 1901. No. 36. p. 421—424.)

Tunnicliffe, F. W. u. Rosenheim, O., Ueber den Einfluß von Formaldehyd in der Nahrung auf den Stoffwechsel von Kindern. (Centralbl. f. Physiol. 1901. No. 2. p. 33—34.)

Fleisch.

Edelmann, Uebersicht über den Betrieb der öffentlichen Schlachthäuser und Roßschlächtereien in Preußen für das Jahr 1899. (Dtsche tierärztl. Wchschr. 1901. No. 17. p. 171—174.)

Bier, Brauerei.

Schönfeld, F., Die Infektionsgefahren bei den obergärigen Brauereien. (Wchschr. f. Brauerei. 1901. No. 18. p. 237—239.)

Wein, Weinbereitung.

Bouffard, Les maladies microbiennes des vins. Fermentation alcoolique. Maladies microbiennes. Casse des vins. Hygiène du vin. Traitements des vins malades. 12°. Montpellier (Coulet et fils) 1901. 6 fr.

Durand, E., Pasteurisation et filtrage des vins. (Vigne améric. 1901. No. 4. p. 104—113.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

Georgii, Massenvergiftung nach Hummergenuß. (Münch. med. Wchschr. 1901. No. 18. p. 706.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

Baille, M., Destruction de la cuscute de la luzerne. (Rev. de viticult. 1901. No. 372. p. 130—131.)

Banti, A., Gli afidi e modo di combatterli. (Bollett. d. entomol. agrar. 1900. No. 9. p. 199—204.)

Barlow, E., Notes on insect pests from the entomological section, Indian Museum. (Ind. Mus. notes. Vol. V. 1900. No. 1. p. 14—34.)

Bordage, E., Sur quelques parasites du caféier à la Réunion. (Rev. agric., org. d. cultivat. de la Réunion.) (Rev. d. cult. colon. 1901. No. 74. p. 207—209.)

Cecconi, G., Terza contribuzione alla conoscenza delle galle della foresta di Vallombrosa. (Malpighia. 1900. Fasc. 5—8. p. 229—246.)

Cenni intorno alla fillossera o pidocchio della vite (*Phylloxera vastatrix* Planch.). (Bollett. d. entomol. agrar. 1900. No. 4/5. p. 75—83.)

Del Guercio, G., Osservazioni naturali ed economiche per gl'insetti che devastano le coltivazioni erbacee nella valle di Bientina. Osservazioni naturali ed economiche sulla simete del fico o *Limaethis nemorana* Hüb. Sul valore vero di un nuovo liquido antiparassitico. (Nuove relaz. intorno ai lavori d. r. staz. di entomol. agrar. di Firenze. Ser. I. 1900. No. 2.)

Giard, A., Sur un hémiptère (*Atractotomus mali* Mey.) parasite des chenilles d'*Hyponomeuta malinellus* Zeller et *H. padellus* L. (Bullet. de la soc. entomol. de France. 1900. No. 18. p. 359—360.)

Künkele, Th., Frostkrebs an Kastanie. [Vorl. Mitt.] (Forstwissensch. Centralbl. 1901. Heft 6. p. 323—326.)

Lagerheim, G., Beiträge zur Kenntnis der Zooecidien des Wachholders, *Juniperus communis* L. (Entomol. Tidsskrift. 1900. p. 113—126.)

Mangin, L., Sur le parasitisme du *Fusarium roseum* et sur les moyens d'enrayer son extension. (Journ. d'agricult. prat. 1901. No. 6. p. 179—181.)

Marchal, E., Recherches biologiques sur une Chytridinée parasite du lin. 8°. 46 p. Bruxelles 1901.

—, Rapport sur les maladies cryptogamiques étudiées au laboratoire de botan. de l'Institut. agric. de Gembloux. Année 1900. 8°. 15 p. Bruxelles 1901.

Mingaud, Gallien et Hasslach, J., Il „*Bruchus irsectus* Fabr.“ insetto coleoptero parassita dei fagioli coltivati. (Bollett. d. entomol. agrar. 1900. No. 7. p. 143—153.)

Noack, F., Molestias das videiras. (Bolet. da agricult. do Estado de São Paulo. Ser. I. 1900. No. 5. p. 308—318.)

- Orton, W. A.**, The wilt disease of cotton and its control. (U. St. Departm. of Agricult. Divis. of veget. physiol. and pathol. 1900. Bullet. No. 27.) 8°. 16 p. Washington 1900.
- Pommerol, F.**, Un hémiptère destructeur des chenilles du pommier (*Atractotomus mali* Meyer). (Rev. scientif. Bourbon. 1901. Janv. p. 18—23.)
- Relazione sullo stato della infezione fillosserica e sui provvedimenti attuati nel 1899 contro la fillossera presentata dal Ministro di agricoltura, industria e commercio. (Camera dei Deputati. 1901. No. 23.) 4°. 304 p. Roma 1901.
- Rickmann und Kaesewurm**, Beobachtungen über Entwicklung und Verwendung des Heuschreckenpilzes in Deutsch-Südwestafrika. (Notizbl. d. kgl. botan. Gart. u. Museums zu Berlin. 1900. No. 24. p. 65—74.)
- Ritzema Bos, J.**, Een en ander over de vermeende vergiftigheid van brand-, roest-en zwartzwammen. (Tijdschr. over plantenziekten. 1900. Aflev. 5/6. p. 159—168.)
- Sajó, K.**, Insekten-Premièren. (Prometheus. 1901. No. 591. p. 289—292.)
- v. Schilling**, Eine stolchende Wollschildlaus, vielfache Blutlausgenossin. (Prakt. Ratgeber im Obst- u. Gartenbau. 1901. No. 3—5. p. 23—26. 36—37. 48—50.)
- v. Schrenk, H.**, A disease of the black locust, *Robinia Pseudacacia* L. (XII. annual rep. of the Missouri botan. garden. Vol. XII. 1901. p. 12—31.)
- , Some diseases of New England conifers. A preliminary report. (U. St. Departm. of agricult. Divis. of veget. physiol. and pathol. 1900. Bullet. No. 25.) 8°. 56 p. Washington 1900.
- Seurat, L. G.**, Observations biologiques sur les parasites des chênes de la Tunisie. (Annal. d. scienc. natur. zoolog. 1900. No. 1. p. 1—34.)
- Solla**, Vermi nemici del caffè. (Bollett. d. entomol. agrar. 1900. No. 9. p. 206—207.)
- Staes, G.**, Het aspergieroest. (Tijdschr. over plantenziekten. 1900. Aflev. 5/6. p. 133—138.)
- Weiss, J. E.**, Kurzgefaßtes Lehrbuch der Krankheiten und Beschädigungen unserer Kulturgewächse. gr. 8°. VIII, 179 p. m. 134 Abbild. Stuttgart (Eugen Ulmer) 1901. 1,75 M.

Inhalt.

Originalmittheilungen.

- Gotthell, O.**, Botanische Beschreibung einiger Bodenbakterien. (Orig.) [Forts.], p. 529.
- Went, F. A. F. C.**, *Monilia sitophila* (Mont.) Sacc., ein technischer Pilz Javas. (Orig.), p. 544.

Referate.

- Bokorny, Th.**, Einige Beobachtungen über das Gärungsferment der Hefe, p. 550.
- Dehérain und Demoussy**, Sur la culture des lupins blancs, p. 551.
- , Sur la culture des lupins bleus, p. 551.
- Hars, C. O.**, Ueber einige Schimmelpilze auf Nahrungs- und Genußmitteln, p. 552.
- Lüstner, G.**, Ueber eine neue Gall-

mücke des Weinstockes, *Clinodiplosis vitis* nov. spec., p. 552.

- Matzdorf**, Pflanzenkrankheiten der Staaten Georgia und Florida, p. 554.
- Nüßlin**, Die Tannenwurzellaus, *Pemphigus* (Holzneria) *Poschingeri* Holzner, p. 552.
- Reuss, H.**, Zur Illustration der Folge-nachteile der Schälbeschädigung durch Hochwild im Fichtenbestande, p. 554.
- Sorauer, F.**, „Der Vermehrungspilz“, p. 553.

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

- Lüke**, Zur Lydakalamität, p. 556.
- Schlichting**, Zur Bekämpfung des Apfelmehltaues, p. 556.
- Zimmermann, A.**, Eenige proeven en waarnemingen over aaltjes, p. 557.

Neue Litteratur, p. 558.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Prof. Dr. J. Behrens in Weinsberg i. W.,
Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Dr. v. Freudenreich in Bern, Privatdocent
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Dr. G. Harris Morris
in London, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädenswil, Dr. Erwin F. Smith in
Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr.,
Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel
und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Berlin

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VII. Band.

Jena, den 10. August 1901.

No. 16.

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

*Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die
Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung
der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.*

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Ueber oligonitrophile Mikroben.

Von Prof. Dr. M. W. Beijerinck¹⁾.

Mit einer Tafel.

Unter „Oligonitrophilen“ verstehe ich diejenigen Mikroben,
welche bei freier Konkurrenz mit der übrigen Mikrowelt sich

1) Meine erste Mitteilung über diesen Gegenstand in der Akad. d. Wissensch.
zu Amsterdam datiert vom 30. März 1901 (Verslagen. p. 633); meine zweite Mit-
teilung vom 25. Mai 1901 (Verslagen. p. 8).

in Nährmedien entwickeln, ohne absichtlich zugefügte Stickstoffverbindungen, aber auch ohne daß Fürsorge getroffen wird, um die letzten Spuren dieser Verbindungen zu entfernen. Sie haben das Vermögen, den freien atmosphärischen Stickstoff binden und zu ihrer Ernährung verwenden zu können.

Sie geben Veranlassung zu zwei prinzipiell verschiedenen Reihen von Anhäufungsversuchen. Man kann nämlich ihre Entwicklung stattfinden lassen: Erstens im Lichte, auf Kosten der atmosphärischen Kohlensäure, wobei die durch Chromophyll gefärbten Oligonitrophilen zu erwarten sind; zweitens bei Gegenwart von Kohlenstoffnahrung im Dunkeln, wobei farblose Oligonitrophilen entgegengesehen werden können.

Ich habe in beiden Richtungen Versuche angestellt; diejenigen im Lichte dauern sehr lange und sind noch nicht abgeschlossen. Sie ergaben das zunächst zu besprechende bemerkenswerte Resultat, welches zum weiteren Studium der vielseitigen Frage ermutigt. Danach werde ich einige mit farblosen Oligonitrophilen erhaltene Erfahrungen mitteilen.

1. Oligonitrophilie bei Cyanophyceen.

Der Versuch wird, wie folgt, ausgeführt:

Große, mit Baumwolle oder Filtrierpapier, oder derartig geschlossene Glaskolben, daß die Luft darin dann und wann erneuert wird durch Luft, welche mit konzentrierter Schwefelsäure von Stickstoffverbindungen gereinigt ist, von 3 oder mehr Liter Inhalt, werden ungefähr bis zur Hälfte angefüllt mit

100 g Leitungs- oder destilliertem Wasser
0,02 g K^2HPO^4

ohne jede weitere Zufügung und mit 1—2 g Gartenerde infiziert¹⁾. Im Winter wird vor einem Südfenster, im Frühjahr und Sommer gegen Nordwest bei Zimmertemperatur zwischen 16 und 20° C aufgestellt. Anfangs entsteht eine treibende Haut von Calciumphosphat, welche durchgeschüttelt wird. Weil der Gehalt an organischen Verbindungen im Leitungswasser gering ist, entsteht keine von farblosen Mikroben herrührende Trübung. Dagegen bildet sich im Winter nach ca. 8, im Sommer nach 4—5 Wochen eine charakteristische Flora, welche aus mehreren Arten von Cyanophyceen besteht. Diese Flora wächst, sobald einmal begonnen, schnell heran und färbt die Flüssigkeit blaugrün oder spangrün.

Anfangs entwickeln die Cyanophyceen sich als Einzelkolonien, welche fest mit der Glaswand verklebt sind, später entstehen auch treibende Häute als eine wahre „Wasserblüte“, welche der Haupt-

1) Das Leitungswasser zu Delft enthält pro Liter 0,42 mg, die Gartenerde im lufttrockenen Zustande 0,56 Proz. Stickstoff. Dieser Bodenstickstoff ist jedoch in einer Bindungsform gegenwärtig, welche durch die Cyanophyceen, sowie durch die übrigen Mikroben, nur für einen minimal kleinen Teil assimilationsfähig ist. Es hat sich denn auch herausgestellt, daß die oligonitrophilen das Vermögen haben, den freien atmosphärischen Stickstoff assimilieren zu können. Die bezüglichen Zahlen werde ich später mitteilen.

sache nach aus *Anabaena* besteht, und zwar aus *Anab. catenula*. Die am Glase befestigten Kolonien dieser Art breiten sich stark seitwärts aus und erzeugen dünne Beläge. Ferner fand ich in großer Anzahl mit dem Glase verklebt und später auch frei herumtreibend, eine dunkelblaugrüne Art, welche verwandt oder identisch mit *Noctoc paludosum* sein dürfte. Seltener sieht man hier und dort einen blaugrünen Schleimklumpen, welcher sich als *Noctoc sphaericum* ergibt¹⁾. Alle diese Arten gehören, wie man sieht, zu den unbeweglichen Cyanophyceen; die beweglichen Oscillarien entstehen unter den beschriebenen Bedingungen nicht, erstens, weil der Kulturflüssigkeit trotzdem nur 1 oder 2 g Erde pro Liter Wasser zugesetzt wurde, damit zu viel organische Stoffe erhielt, um das Wachstum der Oscillarien zu ermöglichen, und zweitens, weil diese Organismen nicht zu den oligonitrophilen gehören, sondern Stickstoffverbindungen in merklichen Quantitäten für ihren Aufbau nötig haben.

Chlorophyceen, und zwar besonders *Chlorococcum* und *Chlorella*, fehlen in diesen Kulturen, wie zu erwarten war, nicht vollständig, jedoch sind dieselben in so geringer Anzahl gegenwärtig, daß sie erst bei der mikroskopischen Prüfung erkannt werden. Diese Thatsache ist besonders deshalb bemerkenswert, weil der Versuch lehrt, daß eine Kulturflüssigkeit von der Zusammensetzung

100 g Leitungswasser
 0,02 „ K^2HPO^4
 0,02 „ NH^4NO^3

und mit einer Spur einer früheren Cyanophyceenkultur infiziert, sich schon nach 3 oder 4 Wochen grün gefärbt hat durch eine Haut, welche hauptsächlich aus *Chlorococcum infusionum* besteht. Erst viel später, wenn die Stickstoffverbindungen verbraucht sind, sieht man die Farbe dunkel werden, indem *Anabaena* zur Entwicklung gelangt. Andere Gattungen wie *Anabaena* habe ich unter diesen Kulturbedingungen nicht erhalten, doch mag das auf dem zufälligen Zustand des Infektionsmaterials beruht haben.

Wenn ich nicht mit Gartenerde infizierte und anstatt Leitungswasser das Wasser aus dem großen Kanal zu Delft verwendete, welches nur wenig verschieden ist von dem Wasser der Maas und deshalb dem gewöhnlichen Flußwasser ziemlich nahe steht, jedoch mehr mit organischen Körpern verunreinigt ist, so ist der Verlauf des Versuches ein anderer. Es entsteht darin nämlich zunächst eine reiche Kultur von Diatomeen, welche sich als Belag auf der Glaswand und als Schwebeflora entwickelt und worin Chlorophyceen aus den Gattungen *Raphidium*, *Chlorella*, *Chlorococcum* und *Scenedesmus* eingestreut sind, ohne jedoch den Diatomeencharakter der Kultur zu verändern. Viel später, nämlich nach 8—10 Wochen, verändert sich die Farbe der Kultur von

1) Nicht alle, bei meinem Versuche erhaltenen Cyanophyceenarten konnte ich determinieren, einige sind wahrscheinlich noch nicht beschrieben.

Braun in Blaugrün, weil die Cyanophyceen dann zur Vermehrung kommen, welche Vermehrung solange fortdauern kann, als genügend Kaliumphosphat und andere mineralische Nährstoffe gegenwärtig sind.

Die Erklärung dieses auffallenden Versuches glaube ich, wie folgt, geben zu müssen: Das Kanalwasser enthält viel mehr organische Körper und besonders auch mehr assimilationsfähige Stickstoffverbindungen wie das Leitungswasser, und so lange diese Körper vorkommen, können nur die Diatomeen, welche bekanntlich viel organische Stoffe ertragen, fortwachsen. Sind die Stickstoffverbindungen in „Diatomeensubstanz“ umgewandelt, so werden die oligonitrophilen Cyanophyceen konkurrenzfähig und der Charakter der Flora verändert sich nun gänzlich.

Daß die Diatomeen thatsächlich einen hohen Gehalt an organischen Stoffen und besonders an assimilationsfähigen Stickstoffverbindungen, wie Ammonsalze und Salpeter, in ihren Nährlösungen vertragen können, geht aus dem folgenden einfachen Versuche hervor: Man fülle ein hohes Cylinderglas zur Hälfte mit Gartenerde, zur anderen Hälfte mit reinem Wasser, schüttele kräftig und stelle den Schlamm vor einem Fenster auf. Nach einigen Tagen oder Wochen, je nach der Temperatur und Jahreszeit, sieht man an der beleuchteten Seite des Glases einen dunkelbraunen Belag von Diatomeen sich absetzen, welche zunächst durch die aus der Gartenerde nach dem Licht kriechenden Diatomeen gebildet, später durch Wachstum und Teilung sich kräftig ausdehnt. Nach einigen Monaten wird der Belag mehr oder weniger durch Chlorophyceen ersetzt, was offenbar dann geschieht, wenn die Diatomeen selbst, sowie andere Mikroben, wie Monaden und Bakterien, die für Assimilation fähigen organischen Stoffe größtenteils verbraucht und in nicht für Assimilation fähiges Material umgewandelt haben. Cyanophyceen entwickeln sich unter solchen Verhältnissen durchaus nicht, weil dafür noch immer viel zu viel Stickstoffverbindungen gegenwärtig sind.

Wenn ich es auch als sicher betrachten muß, daß die Cyanophyceenflora bei meinen Leitungs- und Kanalwasserversuchen sich nur dann entwickelt, wenn der Gehalt an organischen Körpern in der Kulturflüssigkeit äußerst gering ist, so betrachte ich doch diesen sehr geringen Gehalt als für das Gelingen des Versuches von essentieller Bedeutung. Jedenfalls konnte ich mich überzeugen, daß bei der möglichst vollkommenen Abwesenheit organischer Körper ganz andere Erscheinungen auftreten, worüber ich jedoch noch keine entscheidenden Resultate mitteilen kann.

Der beschriebene Cyanophyceenversuch ist im Prinzip eigentlich nicht ganz neu: Er wurde schon im Jahre 1892 von Schlössing fils und Laurent ausgeführt¹⁾, jedoch nicht mit Kultur-

1) Fixation de l'azote libre par les plantes. (Annal. de l'Institut. Pasteur. T. VI. 1892. p. 832.) Die Autoren fanden in ihren Kulturen der Hauptsache nach *Nostoc punctiforme*, *N. minutum* und *Cylindrospermum major*.

flüssigkeiten, sondern mit einem gewöhnlichen Sandboden und bei sehr viel komplizierteren Bedingungen, wie bei dem meinigen. Wichtig aber ist, daß auch die genannten Forscher, wenn Stickstoffverbindungen gänzlich ausgeschlossen waren und nur Kohlensäure als Kohlenstoffquelle gegeben wurde, eben wie ich im Lichte eine Cyanophyceenflora erhielten. Sie kamen dabei zu dem Resultate, daß diese Cyanophyceen freien Stickstoff, zwar in geringen, jedoch in gut meßbaren Mengen, assimilieren. Zwar sind ihre Versuche nicht völlig überzeugend, weil in ihren Kulturen sicher auch viele andere Mikroben, wie z. B. Bakterien, vorkamen, dennoch betrachte ich ihre Auffassung, auf Grund meiner eigenen Erfahrungen, als richtig.

Die Oligonitrophilie der Cyanophyceen wirft einiges Licht auf die beiden folgenden Beobachtungen: Graebner¹⁾ sah, daß frische Sandböden, welche sich in Heidemoore verwandelten, sich zunächst mit einer Cyanophyceenvegetation bedecken, welche einige Millimeter tief unter die Oberfläche dringt. Und Treub, welcher 3 Jahre nach dem Ausbruch die verwüstete Insel Krakatau besuchte, fand die vulkanische Asche mit einer Schicht (beweglicher ?) Cyanophyceen bedeckt, wovon er speziell *Lingbya verbeekiana* und *L. minutissima* anführt²⁾. Bei einer gänzlichen Zurückweisung der Theorie der *Generatio spontanea* würde man sich deshalb denken können, daß die aus dem Weltenraum angeführten Keime von Cyanophyceen die Urbewohner der Erde gewesen sind, weil uns keine andere Organismen bekannt sind, welche ihre organische Substanz aus Kohlensäure und freiem atmosphärischem Stickstoff erzeugen können.

Als ich bekannt geworden war mit der Hauptbedingung der Kultur der Cyanophyceen, war es leicht, die in den flüssigen Medien entstandenen Formen auf festem Substrate in Reinkultur zu bringen. Dafür verwendete ich Kiesel- oder Agarplatten, aus welcher durch lange fortgesetztes Auswaschen mit Leitungswasser die löslichen Substanzen ausgelaugt waren und welche ca. 0,02 Proz. K^2HPO^4 enthielten. Wenn darauf die Leitungswasserkulturen der Cyanophyceen ausgesät wurden, entwickelten sich im Lichte vor einem Nordfenster schon innerhalb 14 Tagen die weit ausgedehnten und stark verzweigten *Anabaena*-Kolonieen. Etwas später ebenfalls die kleineren, mehr gedrungenen Kolonieen anderer Arten.

Die Anfertigung der Platten muß mit viel Umsicht geschehen, denn ist zuviel organischer Stoff zurückgeblieben, so entwickeln sich darauf nur Bakterien und *Chlorella*³⁾, aber keine Cyanophyceen. Darum geschieht das Auswaschen erst dann, wenn die Platte schon in der Glasdose ausgegossen ist, in der Weise, daß

1) Studien über die norddeutsche Heide. (Botan. Jahrb. Bd. XX. 1895.)

2) Notice sur la nouvelle flore de Krakatau. (Annal. d. Jard. Bot. d. Buitenzorg. T. VII. 1888.)

3) Die Chlorellen, sowie viele andere niedere Chlorophyceen vertragen, wie ich früher gezeigt habe, sehr viel gelöste organische Stoffe ohne Nachteil.

die ganze Dose in einen großen Glastrog gestellt wird, worin tagelang frisches Leitungswasser hinein- und hinausströmt. Das Kaliumphosphat wird dann dadurch in die Platte gebracht, daß diese mit der Lösung davon übergossen wird und stehen bleibt, wobei diese Lösung dann und wann abgegossen und erneuert wird. Schließlich wird die Glasdose über einer Gasflamme etwas erhitzt, um das flüssige anhängende Wasser zu entfernen, und so eine „trockene“ Agaroberfläche zur Aussaat der Cyanophyceen zu bekommen.

Die beweglichen Cyanophyceen, wie die Oscillarien und Verwandte, wachsen auf diesem Boden nicht, ja dieselben sterben, wenn sie darauf gebracht werden, schon nach wenigen Tagen völlig ab. Dennoch gelang es Herrn A. van Delden, in meinem Laboratorium eine solche bewegliche, mit *Oscillaria* verwandte Art aus dem Kanalwasser zu Delft in Reinkultur zu bringen. Dafür ergaben sich zwei weitere Fürsorgen als notwendig: Erstens mußten die organischen Substanzen viel vollständiger aus dem Agar entfernt werden wie im vorigen Falle, was dadurch gelang, daß für das Auslaugen ein Strom destilliertes Wasser verwendet wurde; zweitens, mußte eine kleine Quantität einer Stickstoffverbindung zugesetzt werden, wofür Ammonitrat sich als geeignet erwies. Ein in dieser Weise vorbereiteter Agarboden ist zugleich geeignet für die Kultur von allerlei Chlorophyceen, welche empfindlich sind für Spuren organischer Substanzen. Damit verlassen wir aber die Gruppe der Oligonitrophilen, deren spezifisches Vermögen es ist, beinahe gänzlich ohne gebundenen Stickstoff leben zu können, weil sie imstande sind, den freien Stickstoff zu assimilieren.

2. Aërobiose und Anaërobiose bei oligonitrophilen Bakterien. Meso- und polynitrophile Bakterien.

Die „elektive Kultur“ von Oligonitrophilen in Nährflüssigkeiten mit Zucker als organischer Kohlenstoff, wurde zuerst von Winogradsky ausgeführt, und zwar unter Verhältnissen, wobei Anaërobiose stattfinden konnte und wobei immer eine gewisse Form des Buttersäurefermentes, von W. als *Clostridium pasteurianum* bezeichnet, erhalten wird¹⁾. Er verwendete Lösungen von 2—4-proz. Glukose mit den nötigen mineralischen Nährstoffen und mit 2—4 Proz. CaCO_3 , aber ohne absichtlich zugesetzte Stickstoffverbindungen. Es wurden damit große Glaskolben mit flachem Boden teilweise angefüllt. Diese waren derartig verschlossen, daß die Luft im Kolben dann und wann durch Säugen erneuert werden konnte durch mit konzentrierter Schwefelsäure gereinigte Luft. Dazu waren im Stopfen zwei Glasröhren angebracht, wovon die eine bis an die Flüssigkeit, die andere nur bis in den Hals reichte. Für die Infektion diente Gartenerde. Es entwickelte sich zunächst eine reiche Aërobenflora, wodurch dann die Anaërobiose des oligonitrophilen Buttersäurefermentes möglich wurde. Auch arbeitete

1) Recherches sur l'assimilation de l'azote libre de l'atmosphère par les microbes. (Archives des sciences biologiques St. Pétersbourg. T. III. 1895. No. 4.)

er mit Reinkulturen dieser Art, bei Abschluß von Luft, aber bei Durchleitung von Stickstoff durch die Kulturkolben.

Bei der Wiederholung dieser Versuche fand ich, daß die Gegenwart von Spuren von Stickstoffverbindungen für die Entwicklung des Buttersäurefermentes notwendig ist, was ebenfalls gilt in Bezug auf die von mir entdeckten Oligonitrophilen, derart, daß in Kulturflüssigkeiten, welche mit solchen Kautelen bereitet werden, daß darin gebundener Stickstoff vollständig fehlt, sowohl bei Aërobiose, wie bei Anaërobiose in einer Stickstoffatmosphäre, das Wachstum der Oligonitrophilen sehr gering ist und bald stillsteht.

Meine Versuche sind von denjenigen von W. insoweit verschieden, daß ich entweder nur Aërobiose ermöglicht, oder den Sauerstoffzutritt doch in der Weise gefördert habe, daß die Buttersäuregärung unterdrückt oder sehr geschwächt war. Auch verwendete ich andere Kohlenstoffquellen wie er. Demzufolge kam ich zur Entdeckung einer noch nicht beschriebenen oligonitrophilen Bakteriengattung, welche zu den Aërobien gehört. Ich werde diese durch die Größe der Individuen leicht kenntliche Gattung *Azotobacter* nennen. Bisher erkannte ich davon 2 sehr verschiedene Arten. Die eine, *A. chroococcum*, ist sehr allgemein in Gartenerde, sowie in allen anderen fruchtbaren Bodenarten¹⁾, die andere ebenso verbreitet im Kanalwasser zu Delft.

Ein ausreichender Zutritt von Sauerstoff ist bei meinem Versuche leicht zu erreichen durch die Kultur in dünner Schicht der Nährlösung zu Boden eines geräumigen Erlenmeyer-Kolbens. Mit Lufterneuerung, wie bei Winogradsky's Versuch. Weil aber das Buttersäureferment durchaus nicht vollständig ohne Sauerstoff existieren kann, allein als „Mikroaërophile“ eben für kräftiges Wachstum Sauerstoff; wenn auch von niederer Spannung, bedürftig ist (was von Winogradky übersehen wurde), so ist die Förderung des Luftzutrittes an sich nicht zureichend, um die Entwicklung des Buttersäurefermentes gänzlich von den aëroben Kulturen zurückzuhalten. Ich habe darum für meine Versuche solche Kohlenstoffquellen gewählt, welche leicht von *Azotobacter* assimiliert, dagegen schwierig oder überhaupt nicht in Buttersäuregärung geraten. Als besonders geeignet lernte ich in dieser Beziehung kennen: Mannit, welches in Lösungen von 2—10 Proz., und Calcium-, Kalium- oder Natriumpropionat, welches in $\frac{1}{2}$ -proz. Lösungen zu verwenden ist. Mannit kann nur schwierig und langsam, Propionat durchaus nicht der Buttersäuregärung anheimfallen. Rohrzucker und Glukose sind weniger geeignet für den Versuch, weil diese Zucker, speziell Glukose, besonders leicht bei Abwesenheit von Stickstoffverbindungen zu Buttersäure vergären. Uebrigens ist eine schwache Buttersäuregärung für meinen Versuch, wenigstens bei Gegenwart von Calciumkarbonat, nicht besonders nachteilig, weil die Butyrate an

1) Untersucht wurden außer Gartenerde: Wiesenboden in verschiedenen Tiefen, Thon eines Weizenackers, Sand der Meeresdünen und der Kartoffeläcker sowie alter Blattdünger, alles mit positivem Erfolg. Haidesand enthält kein *Azotobacter*.

und für sich gut assimilierbare Kohlenstoffquellen für Azotobacter sind.

Bei der Reinkultur der Oligonitrophilen ergibt sich, daß die gewöhnlichen saprophytischen Bakterien, deren Keime im Infektionsmaterial massenhaft vorkommen, sich in den Rohkulturen der Oligonitrophilen kaum oder gar nicht vermehren, offenbar infolge der unzureichenden Stickstoffernährung, weshalb dieselben „polynitrophil“ genannt werden können. Gewisse andere Arten nehmen aber in Bezug auf die Stickstoffernährung eine intermediäre Stellung ein und werden unter dem Namen „Mesonitrophile“ in § 4 etwas näher betrachtet werden.

Hier ist die Stelle, noch auf einen anderen Umstand zu weisen, wodurch meine aëroben Oligonitrophilen sich kennzeichnen. Ich meine das Fehlen der Sporenbildung, was zur Folge hat, daß mit pasteurisierter oder durch Sieden erhitzter Gartenerde ausgeführte Versuche keine Azotobacter-Kulturen liefern können. Für die Buttersäurefermente liegen die Verhältnisse jedoch anders, weil sie Sporen erzeugen, welche sehr gut Temperaturen von 90–95° C widerstehen können. Obschon mit pasteurisierter Erde infizierte Buttersäuregärung einen langsameren und schwerfälligeren Verlauf hat, wie die mit frischer Erde, können darin jedoch der Hauptsache nach die gleichen Erscheinungen beobachtet werden¹⁾, und eine eigentümliche, darin sehr oft, wenn nicht immer vorkommende Bakterie, wird unter den Mesonitrophilen als Granulobacter sphericum besprochen werden.

3. Anhäufung von Azotobacter chroococcum aus Gartenerde.

Sehr reiche Kulturen werden auf folgende einfache Weise erhalten.

Eine Nährlösung von der Zusammensetzung:

100	g	Leitungswasser
2	„	Mannit
0,02	„	K ² HPO ⁴

wird in dünner Schicht in einen Erlenmeyer-Kolben gebracht, mit einer reichlichen Menge, z. B. 0,1–0,2 g frischer Gartenerde infiziert und bei 27–30° C aufgestellt. Die Nährlösung reagiert durch das K²HPO⁴ schwach alkalisch²⁾ und scheidet allmählich etwas Calciumphosphat in Form einer dünnen, treibenden, aus kleinen Sphäriten gebildeten Haut ab. Andere Stickstoffverbindungen, wie die geringe aus Wasser und Erde herkunftige Menge,

1) Auf Grund von vielen neuen Versuchen muß ich glauben, daß der letzte hier ausgesprochene Satz, welchen ich mehr auf Winogradsky's Autorität als auf eigene Erfahrung gegründet niederschrieb, nur bei Gegenwart von viel Calciumcarbonat in der Kulturflüssigkeit richtig ist. Fehlt dieser Körper, so wird nach meiner Erfahrung der freie Stickstoff nur dann gebunden, wenn Azotobacter gegenwärtig ist, doch kann der Betrag an gebundenem freiem Stickstoff sich verdreifachen, wenn zugleich Buttersäureferment in den Kulturen vorkommt.

2) Die alkalische Reaktion ist für den Versuch günstig. Zwar kann auch KH²PO⁴ verwendet werden, doch ist der Verlauf damit weniger sicher.

fehlen hier also gänzlich, doch sind diese für das Gelingen des Versuches durchaus notwendig; ohne dieselben findet, wie gesagt, nur eine geringe Mikrobenentwicklung statt, welche sehr bald gänzlich aufhört. Und dieses gilt sowohl für *Azotobacter* wie für das Buttersäureferment. Etwas größere Mengen von gebundenem Stickstoff sind den Versuchen jedoch verderblich. So gelingt dieser z. B. nicht, wenn pro Liter Nährlösung 10 mg KNO_3 oder mehr vorkommen. Andere Stickstoffverbindungen sind schon in noch geringeren Quantitäten zureichend, um *Azotobacter* die Konkurrenz mit den Nitrophilen unmöglich zu machen. Doch werden die Reinkulturen unserer Bakterie von mäßigen Quantitäten gebundenem Stickstoff nicht allein nicht gehindert, sondern eben in ihrem Wachstum kräftig gefördert.

Winogradsky's *Clostridium pasteurianum* verhält sich dem gebundenen Stickstoff gegenüber in den Rohkulturen etwas anders. Absichtlich zugesetzte beträchtliche Quantitäten davon werden nämlich zuerst von den gewöhnlichen polynitrophilen Formen zum Wachstum aufgebraucht, und sobald mit Diphenylamin und Schwefelsäure keine Nitrate und Nitrite, mit Neßler's Reaktiv keine Ammoniaksalze mehr anzuzeigen sind, fängt die Buttersäuregärung ganz normal an.

In der beschriebenen stickstoffarmen Nährlösung entsteht am 2. oder 3. Tage bei 30°C eine auf der Oberfläche der Nährlösung treibende Haut der sehr eigentümlichen, großzelligen Bakterie *Azotobacter chroococcum*. Diese Haut wächst, ohne zunächst unterzusinken, einer „Kahmhaut“ ähnlich, mehrere Tage lang kräftig fort und bevölkert sich, außer mit verschiedenen Arten von kleinen Bakterien, mit Amöben und Monaden und bisweilen auch mit Infusorien. Die kleinen Bakterien haben ein größeres Bedürfnis an gebundenem Stickstoff wie *Azotobacter*, jedoch geringer wie die gewöhnlichen saprophytischen „polynitrophilen“ Arten, und können deshalb „Mesonitrophile“ genannt werden. Diese verhalten sich ihrer Anzahl nach in Bezug auf *Azotobacter* wie die Essigbakterien zu *Saccharomyces mycoderma* in einer *Mycoderma*-Haut auf verdorbenem Bier, so daß ihre Gegenwart sich erst durch das Mikroskop anzeigt, und nicht durch äußerlich sichtbare Kennzeichen der *Azotobacter*-Haut. Bei einer chemischen Analyse würde ihre Gegenwart kaum bewirkt werden. Wird der Versuch ausgeführt mit 0,5 Proz. Calciumpropionat als Kohlenstoffquelle anstatt Mannit, so erhält man mit Gartenerde als Infektionsmaterial, nach 3 oder 4 Tagen *Azotobacter*-Häute, welche mikroskopisch kaum oder durchaus keine anderen Bakterien aufweisen, und worin diese nur durch Kultur auf festen Medien erkannt werden. Es ist bemerkenswert, daß die Gegenwart der Mesonitrophilen förderlich ist für das Wachstum von *Azotobacter*, und daß bei deren Abwesenheit, wie in den Reinkulturen, niemals die schönen treibenden Häute der Rohkulturen erhalten werden. Ich werde auf dieselben unten noch zurückkommen. Die gewöhnlichen saprophytischen polynitrophilen Bakterien, wie die Fluorescenten, die Arten von *Aërobacter*, *Proteobacter*, *Sac-*

charobacter und die Heupilze sind in den Azotobacter-Kulturen entweder selten, oder sie fehlen darin gänzlich, obschon sie im Infektionsmaterial reichlich vorkommen. Da auch Schimmel- und Hefearten anfangs völlig fehlen, ist der Azotobacter-Versuch ein neues Beispiel eines vollkommenen Anhäufungs-„versuches“, wovon ich ein anderes Beispiel für gewisse Ureumbakterien beschrieben habe¹⁾.

Die Gegenwart der Amöben in den Azotobacter-Häuten verdient insoweit noch besonders erwähnt zu werden, weil dieselben sich eben von Azotobacter vorzugsweise ernähren und sich so schnell fortpflanzen, daß sie in den Kulturen große Zerstörungen verursachen können. Sie gehören mehreren Arten an, welche sich auf den für die Reinkulturen von Azotobacter geeigneten festen Medien üppig entwickeln. Sie bilden darauf die reinen, früher von mir beschriebenen²⁾ Amöbenschleier, welche frei von Bakterien sind, so daß sie zugleich mit Azotobacter in Reinkultur erhalten und mit willkürlichen anderen Mikroben als Nahrung kombiniert werden können. Kurz, die Azotobacter-Anhäufung ist zugleich eine geeignete Grundlage für das Studium der Amöben.

Aber kehren wir zu Azotobacter selbst zurück.

Unser Anhäufungsversuch ist nicht beschränkt auf den Gebrauch von Mannit oder Propionaten, sondern kann mit einer Menge anderer Kohlenstoffverbindungen, wenn auch etwas weniger sicher, gute Resultate geben. So konnte ich den Mannit ersetzen durch Glukose, Lävulose, Galaktose, Rohrzucker und Maltose, wobei ich jedenfalls reichlich Azotobacter erhielt. Jedoch erzeugen Glukose und Rohrzucker schleimige Häute, welche bald untersinken, wobei Glukose und Lävulose sehr leicht, Rohrzucker, Maltose und Galaktose schwieriger zu Buttersäuregärung Veranlassung geben, weshalb diese Zuckerarten nur in sehr dünnen, stark aërierten Schichten der Nährlösung zur Verwendung kommen sollen.

Glycerin ergibt sich als weniger geeignet, weil davon nur geringere Konzentrationen verwendet werden können, z. B. von 2—3 Proz., und auch damit ist die Hautbildung nur langsam. Doch sind die damit erhaltenen Azotobacter-Kulturen schließlich sehr rein und enthalten nur wenig andere Bakterien, wenn auch sehr viele Amöben. Dasselbe fand ich bei der Verwendung von Aethylalkohol, welcher in 2-proz. Lösung sich gut eignet für Azotobacter-Kultur, jedoch auch den Amöben günstig ist.

Milchzucker wird von Azotobacter durchaus nicht assimiliert, dagegen sehr gut von dem Buttersäureferment.

Es werden fernerhin die folgenden Körper assimiliert, und zwar der Leichtigkeit nach in der gewählten Reihenfolge, so daß die ersten am schnellsten oxydieren: Propionate, Butyrate, Laktate, Malate, Succinate, Acetate, Citrate. Die Produkte der Oxydation

1) Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. VII. 1901. p. 35.

2) Centralbl. f. Bakt. etc. 1. Abt. Bd. XIX. 1896. p. 257 und Bd. XXI. 1897. p. 101.

sind Kohlensäure und Wasser. Dagegen werden Tartrate und Formiate von *Azotobacter* nicht angegriffen.

Weil aus dieser Uebersicht geschlossen werden kann, daß *Azotobacter* noch sehr viele andere Kohlenstoffquellen, wie die hier genannten wird assimilieren können, so ist offenbar die Oxydationskraft dieser Bakterie vielseitig entwickelt und am besten zu vergleichen mit derjenigen der Fluorescenten, welche aber von *Azotobacter* prinzipiell verschieden sind durch ihr viel höheres Bedürfnis an gebundenem Stickstoff.

Die rohe *Azotobacter*-Membran, auf die genannten Nährmedien erhalten, besteht anfangs aus sehr dicken Kurzstäbchen (ca. 4 μ dick und 5—7 μ lang), welche abgerundete Enden haben und oft zu riesigen Diplokokken verbunden bleiben¹⁾. Das mikroskopische Bild erhellt aus Fig. 1 der Tafel, welches aber nach Reinkulturen (vergl. § 5.) aufgenommen wurde. Die meisten Zellen sind in Ruhe, doch zeigen einzelne Exemplare eine ruhige langsame Bewegung. Eine Zellwand ist deutlich ausgebildet als eine Schleimschicht von sehr verschiedener Dicke, welche entweder direkt sichtbar ist oder sich leicht sichtbar machen läßt, wenn man in das Präparat zugleich irgend eine kleine Bakterie bringt, wobei die schleimige Wand, welche im Wasser nicht zu sehen ist, weil die lichtbrechende Kraft zu wenig von der des Wassers verschieden ist, sich scharf hervorhebt, indem die kleinen Bakterien nicht hindringen können, wie in Fig. 2 dargestellt. Für die Erklärung dieser Figur verweise ich übrigens auf die Beschreibung der Reinkultur in § 5.

Viele Zellen von jugendlichen Kulturen (Fig. 1) zeigen eine große und sehr deutliche Vakuole, welche seitlich der Wand anliegt. Die mit Mannit ernährten Zellen häufen oft Fett an (vergl. Fig. 4), welches als kleine Oeltröpfchen sich auf sehr regelmäßige Weise in den Zellen ablagert. Rohrzucker und Glukose geben weniger Veranlassung zur Fettbildung, dagegen zu einer viel intensiveren Schleimabsonderung auf der Außenseite der Zellen.

Beim Altern der Kulturen verändert die treibende Membran ihre Farbe und Struktur, und wird zuerst braun, später selbst schwarz, wobei durch fortgesetzte Teilung sarcineartige Pakete entstehen. Dieses geschieht jedoch mit ungleicher Leichtigkeit je nach den verschiedenen Kohlenstoffquellen, und zwar schwierig aus Zucker direkt, leicht dagegen aus Butyraten und aus Zucker nach vorheriger Buttersäuregärung. In Fig. 3 sieht man das Bild des braunen Stadiums, welches nach einer Reinkultur auf Glukoseagar aufgenommen wurde. Der braune Farbstoff ist unlöslich in den gewöhnlichen Lösungsmitteln, wie Wasser, Alkohol, Aether, Chloroform und Schwefelkohlenstoff, schwer löslich in Alkalien, wobei zugleich Zersetzung stattfindet. Derselbe ist völlig verschieden von

1) Auf Nährlösungen mit Propionaten oder Acetaten als Kohlenstoffquelle erhielt ich bei den Anhäufungen aus Gartenerde als Infektionsmaterial bisweilen eine viel kleinere Form, welche ich jedoch nur als eine Varietät von *A. chroococcum* betrachte. Eine zweite Varietät von *A. chroococcum*, welche viel längere Zellen besitzt, isolierte ich aus Kanalwasser.

Chromophyll. Die Wahl des Artnamens *chroococcum* wurde durch diesen Farbstoff veranlaßt.

Mit der Veränderung der Farbe ändert sich, wie gesagt, das mikroskopische Bild der Bakterien selbst beträchtlich. Die Größe der meisten Individuen wird geringer, ihre Gestalt wird mehr kugelig, so daß man nicht mehr die dicken Kurzstäbchen der Jugendzustände, sondern ziemlich kleine Mikrokokken zu Gesicht bekommt. Bei der fortgesetzten Teilung bleiben diese Gebilde zu Sarcinepaketen vereinigt, welche eine ansehnliche Größe erreichen können. Solche Sarcinekolonien entstehen oft dann, und zwar unvermittelt, wenn man künstliche Nährflüssigkeiten aus destilliertem Wasser herstellt, welche so arm als möglich an Stickstoffverbindungen sind; sie können darauf ziemlich ausgedehnte Membranen erzeugen, welche auffallend lange fortwachsen.

A. chroococcum erzeugt sehr leicht, besonders in den treibenden Membranen der Rohkulturen, Involutionenformen; diese können zu Riesenzellen anschwellen, welche 10–15 μ messen, und machen den Eindruck von Amöben oder Hefezellen (Fig. 4).

Auf die sehr starke Schleimbildung, welche bei ungenügender Stickstoffverbindung mit Zucker als Kohlenstoffquelle beobachtet wird, werde ich bei der Besprechung der Reinkultur noch zurückkommen.

4. Die Mesonitrophilen.

Früher wurde schon gesagt, daß zwar die gewöhnlichen „polynitrophilen“ saprophytischen Bakterien in den Kulturen der Oligonitrophilen fehlen, daß darin aber eigentümliche Arten sich ziemlich reichlich vermehren, welche ich in Bezug auf ihr Stickstoffbedürfnis als „Mesonitrophilen“ zusammenfasse. Als best bekanntes Beispiel dieser Gruppe betrachte ich *Bacillus radicola* der Papilionaceenknöllchen, welche Art ich aber bisher in den Oligonitrophilenanhäufungen¹⁾ nicht sicher nachweisen konnte. Obschon ich die darin wohl aufgefundenen Arten noch nicht ausführlich untersucht habe, dürften einige Worte darüber doch nicht überflüssig sein.

Die Mesonitrophilen werden sowohl bei der nach Winogradsky's Vorschrift eingerichteten Buttersäuregärung gefunden, wie bei meinem *Azotobacter*-Versuche, und zum Teile sind sie wohl identisch. Dennoch fand ich in den meisten Buttersäuregärungen eine interessante Art, welche ich in den *Azotobacter*-Kulturen ohne Buttersäuregärung niemals gesehen habe, und welche hier zunächst angeführt werden mag unter dem Namen: *Granulobacter sphericum*. Wie der Name andeutet, gehört diese Form zu der früher von mir aufgestellten Gattung *Granulobacter*²⁾, wozu ebenfalls *Clostridium pasteurianum* gehört.

1) Zu vergleichen das Ende dieses Abschnittes.

2) Ich muß hier bemerken, daß der Gattungsname *Granulobacter* eine natürliche, d. h. durch den phyletischen Zusammenhang der Arten bestimmte Gattung betrifft, und nicht als „morphologischer Gattungsname“, wie *Clostridium*, oder als „physiologischer“, wie *Photobacter*, aufzufassen ist.

Diese Art erzeugt, wie alle Arten der Gattung überhaupt, Sporen, welche das Pasteurisieren vertragen können, so daß sie eben bei den Versuchen mit pasteurisierter Erde als Infektionsmaterial besonders leicht zur Beobachtung kommt, ja dabei oft die einzige Verunreinigung darstellt, welche sich neben dem Buttersäureferment ziemlich reichlich entwickelt.

G. sphericum ist mikroaërophil, jedoch in geringerem Maße wie das Buttersäureferment und nähert sich dadurch dem „mesoaërophilen“ Typus, wozu die Spirillen gehören, was besonders daraus hervorgeht, daß sie auf den Platten bei vollem Luftzutritt zur Entwicklung zu bringen ist, was mit dem Buttersäureferment nicht gelingt. Wenn die Nährlösung folgende Zusammenstellung hat:

100	g	Leitungswasser
2	„	Glukose
0,02	„	K^2HPO^4
2	„	$CaCO^3$

und die Infektion mit pasteurisierter Gartenerde stattgefunden hat, so stellt sich bei beschränktem Luftzutritt, bei ca. $30^{\circ} C$, nach 2 oder 3 Tagen zunächst eine Gärung ein, welche sich durch den angenehmen Geruch nach Aethyl- und Propylalkohol auszeichnet. Diese Gärung entsteht durch unsere Bakterie, welche im mikroskopischen Bild sich zum Teile als beinahe gänzlich kugelfunde Clostridien von $1-2 \mu$, mit länglichen, excentrisch gestellten Sporen, anderenteils als kleine gewöhnliche Clostridien mit endständigen, wenn auch etwas excentrischen Sporen erkennen läßt. Die Sporen sind klein, messen ca. $0,3-0,5 \mu$ und finden sich in den verlängerten Clostridien im dicken Ende. Sowohl die kugeligen, wie die verlängerten Clostridien färben sich mit Jod intensiv blau.

Die Reinkultur gelingt leicht aus der genannten Nährlösung, wenn diese zur Aussaat kommt auf einem festen Boden von gleicher Zusammensetzung, jedoch ohne Kreide, erstarrt mit 2 Proz. Agar.

Die Kolonien von *G. sphericum* kommen darauf oft sofort in Reinkultur, weil das Buttersäureferment sich nicht auf diesem festen Boden, und die sporenerzeugenden Aëroben sich nicht oder kaum in der flüssigen Rohkultur entwickeln können. Da bei dieser Beschreibung vorausgesetzt wurde, daß die Rohinfektion mit pasteurisierter Gartenerde stattgefunden hat, beweist das Fehlen der Aëroben, daß unter den Sporenbildnern außer dem Buttersäureferment überhaupt keine Oligonitrophilen vorkommen, weil anders in den offenen Kulturkolben sicher wohl einige Teilungen derselben hätten stattfinden können.

Wenn frische Gartenerde zur Infektion verwendet wird, kommt diese Art ebenso gut zur Entwicklung wie aus pasteurisierter; jedoch nur bei der Buttersäuregärung, nicht bei dem auf voller Aërobiose beruhenden *Azotobacter*-Versuche.

Auf den gewöhnlichen festen stickstoffreichen Nährmedien konnte ich kein bedeutendes Wachstum von *G. sphericum* erzielen. Auf Leitungswasseragar mit 2 Proz. Rohrzucker und Kaliumphosphat, worauf die frisch solierten Kulturen kräftig wachsen, ge-

lingen nur ganz wenige Ueberimpfungen, bald hört das Wachstum auf, so daß diese Art (wie manche andere Mikroaërophilen) bei vollem Luftzutritt schnell degeneriert.

Eine zweite bemerkenswerte mesonitrophile Art, welche in den Azotobacter-Anhäufungen in Mannitlösungen mit Garten-erde als Infektionsmaterial oft massenhaft vorkommt, ist ein kleines, sehr leicht kenntliches Spirillum, welches ca. 1μ dick und $1-2 \mu$ lang ist. Die meisten Individuen sind voll kleinen Fetttröpfchen, welche dem Bakterienkörper eine so stark lichtbrechende Kraft geben, daß das mikroskopische Bild bei hoher Einstellung schwarz erscheint. Die Atmungsfigur in der Glaskammer zeigt mit großer Schärfe die „mesoaërophile“ Anhäufung in einer feinen Linie ziemlich weit vom Meniscus entfernt, und hält sich, bei Gegenwart von einer genügenden Menge Mannit tagelang. Die einzige Bakterie, welche unter diesen Verhältnissen mit dieser Art konkurrieren kann, ist das Buttersäureferment, welches jedoch mikroaërophil ist und in der Glaskammer eine noch mehr dem Mittelpunkt genäherte Atmungslinie erzeugt.

Die Reinkultur ist bisher nicht gelungen.

Die Art beweist, daß auch im Gartenboden echte Spirillen gefunden werden.

Ich würde nun noch ein oder zwei weitere mesonitrophile Arten zu nennen haben, welche nahe mit *Bacillus radicola* verwandt sind, doch habe ich dieselben noch nicht ausführlich studiert. Es hat sich herausgestellt, daß eben diese Arten die Entwicklung der Oligonitrophilen in hohem Maße begünstigen, so daß das weitere Studium derselben sicher lohnend sein wird.

5. Reinkultur von *Azotobacter chroococcum*.

Die Reinkultur von *A. chroococcum* aus den treibenden Membranen geschieht sehr leicht durch Anfertigung von Impfstrichen auf einem Kulturboden von folgender Zusammensetzung:

100	g	destilliertes Wasser
2	„	Mannit
0,02	„	K^2HPO^4
2	„	Agar ¹⁾

Die 2 Proz. Agar enthalten die übrigen notwendigen mineralischen Nährstoffe in genügender Menge. Bei $30^\circ C$ kultiviert, wird *Azotobacter* schon nach 24 Stunden darauf sichtbar als kleisterartige Kolonien, welche deutlich kontrastieren zu den wässerigen durchsichtigen Kolonien der Nitrophilen. Zwar waren die letzten bei der Rohkultur durch *Azotobacter* zurückgedrängt, doch kommen sie auf den Platten wieder zur Entwicklung infolge der Gegenwart von Stickstoffverbindungen im Agar. Da alle anderen

1) Weil solche Agarplatten nach dem Erstarren Flüssigkeit auspressen, ist es notwendig, dieselben in den Glasschalen selbst vorsichtig zu erwärmen, so daß sich das überflüssige Wasser an den Deckeln kondensiert und von dort entfernt werden kann. Natürlich muß die Erhitzung nur so schwach sein, daß keine Verflüssigung erfolgt. Man kann auf diese Weise jede beliebige Konzentration des Agars herbeiführen.

Arten nach wenigen Tagen aufhören zu wachsen, während die *Azotobacter*-Kolonien dann noch lange fortfahren, sich als große weiße Schleimklumpen zu vergrößern, ist ihre Erkennung in dem Gemische außerordentlich leicht.

Die Reinkulturen von *Azotobacter* können auf den verschiedenartigsten Medien sich kräftig entwickeln. Ich kultivierte z. B. längere Zeit auf Erbsenblätterdekotgelatine mit 2 Proz. Rohrzucker, auf Leitungswasser 2 Proz. Agar mit 4 Proz. Glukose, und auf gewöhnlicher Fleischgelatine, auf welcher letzterem Boden eine schwache oder keine Verflüssigung stattfindet und das Wachstum nur unbedeutend bleibt.

In flüssigen Nährmedien wird das Wachstum der Reinkulturen sehr gefördert durch kleine Quantitäten der verschiedenartigsten Stickstoffverbindungen. Besonders Nitrate werden gut assimiliert selbst in Konzentrationen von 1 g pro Liter. So sah ich sehr intensives Wachstum in

100	g	Leitungswasser
2—10	"	Mannit
0,02	"	K^2HPO^4
0,1	"	KNO^3

Ammonsalze werden schwieriger assimiliert; dennoch sah ich reichliche Entwicklung in

100	g	Leitungswasser
2	"	Glukose
0,02	"	K^2HPO^4
0,02	"	$(NH^4)^2HPO^4$

Asparagin wirkt ungefähr wie Ammonsalze; Pepton wird sehr schwierig verbraucht.

Ebenso wie die Rohkulturen werden die Reinkulturen, nachdem sie einige Zeit aufbewahrt sind, tiefbraun, besonders wenn Glukose als Kohlenstoffquelle und eine Spur Kaliumnitrat als Stickstoffquelle gegeben sind. Die Reinkulturen scheinen jedoch auch in anderer Beziehung ihren Charakter etwas abzuändern; denn ich konnte damit niemals die schönen kahmartigen Membranen erzeugen, wie solche in den Rohkulturen entstehen. Doch mag dieses mit der Gegenwart der vielen fremden Mikroben zusammenhängen; jedenfalls reproduzieren die Reinkulturen sich beim Ueberimpfen auf dem genannten festen Boden lange Zeit unverändert.

Impft man anstatt mit *Azotobacter* in Reinkultur die Nährlösungen mit reinem *Azotobacter* samt irgend einer der früher angeführten Mesonitrophilen, so scheint das Wachstum von *Azotobacter* etwas erhöht zu werden, besonders wenn die bezüglichen Symbionten die am Ende von § 4 bezeichneten, mit *Bac. radiculicola* verwandten Arten sind, oder auch wenn dafür *Bac. radiculicola* selbst gewählt wird. So sah ich z. B. in einer dünnen Schicht folgender Nährlösung

100	g	Leitungswasser
2	"	Rohrzucker
0,02	"	K^2HPO^4

mit *Bacillus radiculicola* (aus Weißklee) allein ein mäßiges,

durch Schleimbildung sich auszeichnendes Wachstum; mit *Azotobacter* allein ein kräftiges Wachstum zu Boden sinkender, nicht schleimiger Zellen; mit beiden zusammen ein sehr kräftiges Wachstum zugleich mit starker Schleimbildung. Ganz dasselbe Resultat ergab eine aus Grabenwasser isolierte Mesonitrophile. Es ist mir noch nicht ganz klar, worauf diese Förderung des Wachstums durch die fremden Bakterien beruhen mag, doch erscheint die Thatsache von einigem Interesse.

Auch habe ich mehrere Versuche angestellt, um symbiotische Wachstumsförderung zu erreichen, zwischen niederen Algen und *Azotobacter*. Dafür verwendete ich einige Reinkulturen meiner Sammlung, nämlich die Chlorophyceen *Stichococcus major*, *Chlorella vulgaris*, *Cystococcus humicola* (aus *Parmelia parietina*), *Pleurococcus vulgaris*, *Chlorococcum infusionum* und die Cyanophycee *Anabaena catenula*. Bisher konnte ich damit jedoch noch keine bedeutenden Resultate erzielen.

Das mikroskopische Verhalten der Reinkulturen von *Azotobacter* auf festen Nährböden stimmt überein mit demjenigen der Membrane der Rohkulturen. Da man hier jedoch viel freier ist bezüglich der Wahl der Nährstoffe, weil die Konkurrenz ausgeschlossen ist, so will ich darauf noch etwas näher eingehen.

Zunächst ergibt sich eine große Verschiedenheit, je nachdem bei reichlicher Stickstoffernährung oder nur mit Spuren von gebundenem Stickstoff und viel organischem Kohlenstoff kultiviert wird. Im letzteren Falle, besonders wenn Zucker assimiliert wird, findet ein gewaltiges Dickenwachstum der Zellmembran statt, d. h. Bildung von Pflanzenschleim, welcher sich hier mit großer Deutlichkeit als Zellwandstoff herausstellt. Um diese Schleimwand sichtbar zu machen, verwendete ich entweder Methylenblau, womit Zellinhalt und -Wand sich verschieden intensiv färben, oder dasselbe Mittel, welches ich für die Untersuchung der Rohmembrane verwendete, nämlich eine Aufschwemmung irgend einer kleinen Bakterienart, z. B. einer Essigbakterie, welche die Grenze der Schleimschicht deutlich anzeigt, weil nicht imstande da hineinzudringen. In Fig. 2 sieht man das Bild nach dem Leben von dem Rande einer Kolonie von *A. chroococcum* auf

Destilliertes Wasser	100
Agar	2
Mannit	2
K ² HPO ⁴	0,02

zugleich mit einer Essigbakterie photographiert. Das Entwicklungsstadium entspricht dem Beginn der Sarcinebildung, welche auch hier in den älteren Kulturen stattfindet, so daß man in der Figur das Protoplasma der *Azotobacter*-Zellen als unregelmäßige Sarcinebildungen sieht. Die Schleimhäute aneinander stoßender Zellenaggregate sind zusammengefloßen; die dazwischen liegenden Körnchen sind die Essigbakterien.

Solange die Kulturen auf dem genannten festen Nährboden noch

jung sind und schnell wachsen, wahrscheinlich infolge der Gegenwart leicht assimilierbarer Stickstoffverbindungen, zeigen die selben das gleiche mikroskopische Bild, wie die jungen Rohmembranen, wie aus Fig. 1 erhellt, welche eine solche sehr junge Reinkultur darstellt, doch nicht anders aussehen würde, wenn nach einer jungen Rohmembran auf flüssiger Nahrung entworfen. Die Reinkulturen wechseln eben wie die Rohanhäufungen, öfter ihre Farbe von Weiß in Braun oder Schwarz, doch sind die Umstände, welche dabei obwalten, noch nicht gut bekannt. Die braune Farbe entsteht besonders bei der Ernährung mit Glukose und bezieht sich ausschließlich auf ältere Sarcinepakete, deren Zellwände sich nicht stark verschleimt haben. Es handelt sich hierbei vielleicht um die Erzeugung von Dauerzuständen; jedenfalls erinnern die braunen Kulturen sehr an gewisse *Fumago*- und *Dematium*-Formen, mit deren Farbstoff diejenige von *Azotobacter* auch übereinstimmen dürfte. Selbst der Zellinhalt der dunkelbraunen Zustände, wie ein solcher in Fig. 3 dargestellt, erinnert so sehr an die Verhältnisse von den genannten höheren Fungi, daß die Photographie für einen solchen Pilz würde durchgehen können. Eigentümlicherweise kommen oft einige solche Fungi auch dann zur Entwicklung, wenn Versuche um *Azotobacter* anzuhäufen, mißlingen, z. B. durch das zufällige Fehlen von dessen Keimen in dem Aussaatmateriale, oder wenn durch den Gebrauch von KH^2PO^4 in übergroßer Menge, die stark saure Reaktion die *Azotobacter*-Entwicklung beeinträchtigt.

Auch mit gewissen *Chroococcaceen* ist die Uebereinstimmung der braunen *Azotobacter*-Kulturen eine täuschende.

Die Beweglichkeit dieser Art ist immer eine beschränkte und nur in sehr jungen Kulturen leicht zu beobachten. Eine solche junge, nur 24 Stunden alte Kultur auf Leitungswasseragar mit Rohrzucker und Kaliumphosphat, sieht man in Fig. 1 dargestellt. Die Anzahl der sich bewegenden Individuen in einem solchen Gesichtsfelde mag vielleicht eine Zehnzahl betragen, und die meisten sich bewegenden Exemplare kommen bald zur Ruhe. Dieser Umstand, sowie die schleimige Struktur der Zellwand gaben in meinem Laboratorium Schwierigkeit bei der Cilienfärbung, doch hatte Prof. Zettnow zu Berlin die große Güte, schöne Präparate von meinem Material, in Spirillenbouillon kultiviert, anzufertigen, woraus hervorgeht, daß jedenfalls bei weitem die Mehrzahl der beweglichen Individuen eine einzelne polare Geißel besitzt. Einzelne Individuen haben aber sicher mehr wie eine Geißel und zwar entschieden in seitlicher Stellung, wenn auch dem Pole genähert. Die nicht beweglichen Individuen sind geißellos.

Für die sehr sonderbaren Involutionenzustände (Fig. 4) verweise ich auf die Figurenerklärung.

6. *Azotobacter agilis*.

Diese Art kommt im Kanalwasser zu Delft neben *Azotobacter chroococcum* vor; in Gartenerde wurde sie nicht aufgefunden. *A. agilis* wird durch einen ähnlichen Anhäufungsver-

such erhalten, wie letztere Art. So erhielt ich z. B. schöne *A. agilis*-Kulturen in folgender Nährlösung:

100 g Grabenwasser
2 „ Mannit
0,02 „ K^2HPO^4

in einer dünnen Schicht während einiger Tage bei 25–30° C kultiviert. Das Kanalwasser muß frisch und nicht pasteurisiert verwendet werden, weil es eben darum zu thun ist, die Mikrobenwelt desselben unter den genannten Bedingungen mit dem sporensen *Azotobacter agilis* konkurrieren zu lassen. Infektion mit Gartenerde findet dabei natürlich nicht statt, doch war zu erwarten, daß *A. chroococcum* im Kanalwasser nicht immer fehlen würde und bei diesem Versuche zugleich sich entwickeln sollte. Dieses geschieht dann und wann auch thatsächlich, und *A. agilis* kann dadurch gänzlich zurückgedrängt werden. Eine der hierbei vorkommenden *Chroococcum*-Formen ist nicht völlig identisch mit denjenigen aus Gartenerde und ergab sich in den Reinkulturen als erblich-konstante Varietät.

Obschon es sich herausgestellt hat, daß die Reinkulturen von *A. agilis* Glukose und Lävulose viel leichter assimilieren wie Mannit, habe ich doch mit letzterem Zucker bessere Resultate bei den Anhäufungen bekommen, wie mit ersterem. Dieses beruht wohl zunächst auf der Leichtigkeit, womit Glukose zu Säurebildung Veranlassung giebt, welche für die *Agilis*-Entwicklung nachteilig ist, doch halte ich es nicht für ausgeschlossen, daß ein Teil des Mannits sehr langsam durch fremde Bakterien, speziell durch Essigfermente, welche im Kanalwasser zu Delft sehr allgemein vorkommen, zu Lävulose oxydiert wird und daß auf dieser langsamen Umwandlung die günstige Wirkung des Mannits beruhen dürfte. Bei dem stark wechselnden Gehalte des Kanalwassers zu Delft an Stickstoffverbindungen war zu erwarten, daß die *Agilis*-Versuche einen unregelmäßigen Verlauf bezüglich der Entwicklungszeit haben und nicht immer gelingen sollten; dieses trifft auch thatsächlich zu. Dennoch entsteht in den meisten Kolben nach 3 bis 7 Tagen eine *Agilis*-Membran von größerer oder geringerer Reinheit. Da die Schleimbildung in dieser Membran viel geringer ist als bei *A. chroococcum*, ist der Zusammenhang derselben auch eine viel loosere und liegen im mikroskopischen Präparate die meisten *Agilis*-Individuen frei nebeneinander. Im ganz frischen Präparate ist deren Beweglichkeit gering, nach einigen Augenblicken fängt aber die Bewegung an und schließlich kann alles in Bewegung kommen. Bei der außerordentlichen Größe und Durchsichtigkeit dieser Bakterie können dann wunderschöne Bilder entstehen.

Hat man soviel Material verwendet, daß sich makroskopisch sichtbare Atmungsfiguren bilden¹⁾, so ergibt sich, daß *A. agilis* zu den „mesoaërophilen“ gehört, das heißt, daß die reichlichste Ansammlung nicht im Meniscus selbst, sondern in einer deut-

1) Vergl. Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XIV. 1893. p. 827.

lichen Entfernung davon entsteht, so daß *A. agilis*, wie die Spirillen, einen mittleren Druck des Sauerstoffs sucht. Da Spirillen sich jedoch etwas weiter nach dem Inneren ansammeln würden, haben sie offenbar ein etwas geringeres Sauerstoffbedürfnis, so daß man auch sagen kann, daß *A. agilis* sich mehr dem Typus der makroaërophilen Bakterien nähert. Die Reinkulturen verhalten sich in dieser Beziehung auf dieselbe Weise wie die Rohanhäufungen.

Da *A. agilis*, eben wie *A. chroococcum*, eine große Anzahl organischer Körper zu assimilieren vermag, gelingt der Versuch auch mit vielen anderen Stoffen. So erhielt ich bisweilen gute Resultate mit Rohrzucker und anderen Zuckerarten in 2-proz. Lösung. In anderen Fällen bekam ich schöne *Agilis*-Häute mit $\frac{1}{2}$ Proz. Calciumlaktat, oder $\frac{1}{2}$ Proz. Calciumacetat. Mit 2-proz. Alkohol als Kohlenstoffquelle erhielt ich ebenfalls sehr reiche *Agilis*-Kulturen, jedoch mit den genannten organisch-sauerer Salzen viel später wie mit den Zuckerarten. Mit Propionaten und Succinaten waren die Resultate weniger befriedigend; zwar werden auch diese Körper energisch assimiliert, doch war dabei das allzu starke Wachstum der Amöben und Monaden hinderlich, weil sie sich vorzugsweise eben mit *Agilis* selbst ernähren.

Weil das Kanalwasser zu Delft reich ist an organischen Stoffen, ist oft schon Hinzufügung von etwas K^2HPO^4 allein und Brüten bei 25—28° C zureichend, um ein feines *Agilis*-Häutchen darauf zur Entwicklung zu bringen. Dieses trifft jedoch nicht immer zu und dürfte mit dem wechselnden Verhältnis zwischen stickstoffhaltiger und stickstofffreier Substanz zusammenhängen¹⁾.

Daß infolge dieses hohen Gehaltes an organischen Stoffen des Kanalwassers die Mesonitrophilen und selbst die Polynitrophilen störend wirken können, war zu erwarten. Auch der hohe Gehalt an Amöben, Monaden und Infusorien giebt dem Versuche einen viel unsichereren Charakter, wie dem in § 3 beschriebenen Versuche mit *A. chroococcum*.

Die Reinkultur von *A. agilis* bietet keine besonderen Schwierigkeiten, wenn die beschriebenen Kulturbedingungen beachtet werden. Folgender fester Boden z. B. ist dafür geeignet:

100 g destilliertes Wasser
 2 „ Agar
 2 „ Glukose
 0,02 „ K^2HPO^4 .

Die übrigen notwendigen mineralischen Nahrungsstoffe kommen in zureichender Quantität im Agar vor. Wenn auf diesem Boden Impfstriche gezogen werden, von *Agilis*-Häuten herrührend, und man kultiviert bei 30° C, so sind schon nach 24 Stunden kleine *Agilis*-Kolonien aufzufinden, welche tagelang ruhig fortwachsen. Zwar bleiben die Mesonitrophilen, besonders eine im Grabenwasser sehr allgemeine Art, welche auf dem gleichen Kulturboden

1) Das Kanalwasser von Delft wird dann und wann erneuert durch Flußwasser aus der Maas bei Rotterdam.

große, wässrige Kolonien erzeugt, im Wachstum immer vor und ist die Zahl der zu Kolonien anwachsenden Keime von *A. agilis* immer relativ gering, doch ist das mikroskopische Bild dieser Bakterie so außerordentlich charakteristisch, daß man sofort im Gewirr der Kolonien orientiert ist.

Wird in dem genannten festen Kulturboden die Glukose ersetzt durch $\frac{1}{2}$ Proz. Calciumpropionat, und werden auf diese Platte Impfstriche von *A. agilis* gezogen, so sieht man rings um die Kolonien nach einigen Tagen ziemlich ausgedehnte Diffusionsfelder eines grünlich-gelben Farbstoffes, welcher an diejenigen der Fluorescenten erinnert, und auch dieser Charakter kann für die Erkennung von *A. agilis* verwendet werden.

Einmal in Reinkultur, kann diese Art auf den verschiedenartigsten Nährböden zur Entwicklung gebracht werden. Auf Fleischwassergelatine ohne weitere Zufügung ist das Wachstum nur sehr mäßig und charakterisiert durch die Bildung von Alkali, und von dem eigentümlichen weißen Präzipitat in der Umgebung des Impfstreiches, welcher für so viele alkalibildende Bakterien charakteristisch ist. Verflüssigung findet durchaus nicht statt. Die Beweglichkeit ist auf diesem Kulturgrunde gut. Viel besser jedoch, wenn kultiviert auf Fleischagar.

Wird der Fleischgelatine Zucker zugesetzt, z. B. 2 Proz. Rohrzucker, so findet mäßige Schleimbildung statt, das heißt, die Bakterien erzeugen, ähnlich wie *A. chroococcum*, dicke, verschleimende Zellwände.

Auf Glukoseagar, also auf stickstoffarmen Nährböden, erzeugen ältere Reinkulturen von *A. agilis* in den Reagentienröhren bisweilen einen diffusionsfähigen, den Agar tiefviolett färbenden Farbstoff. Die Bedingungen, wobei dieses geschieht, vermag ich noch nicht anzugeben.

Sporenbildung findet nicht statt, so daß Pasteurisieren nicht überstanden wird.

Die Cilienfärbung gab in meinem Laboratorium Veranlassung zu Schwierigkeiten, ich habe mich darum, auch in diesem Falle zu Prof. Zettnow in Berlin gewendet, dem ich *A. agilis* zusendete mit der Bitte um sein Urteil. Er hatte die Güte, mir sehr schöne Präparate zu geben, welche überzeugend darthun, daß die Cilien in polaren Bündeln stehen, wie aus der Photographie Fig. 6, welche nach einem seiner Präparate angefertigt wurde, hervorgeht. Er schreibt mir darüber Folgendes: „... In Spirillenbouillon war kein Individuum, das sich nicht auf das lebhafteste bewegt hätte... Nach der Art der ruhigen, wogenden, wenn auch kräftigen Bewegung, welche mich sehr an diejenige der kleinen Monaden erinnerte, hatte ich eine resp. mehrere Polgeißeln vermutet, und diese Ansicht haben auch die Präparate aus Spirillenbouillon, in welcher die Kultur in vollstem Leben durch Formalin abgetötet wurde, bestätigt. Es hat mir jedoch Schwierigkeiten gemacht, zu diesem Resultate zu kommen. Die 6—10 am Pole, resp. an beiden Polen befindlichen Geißeln, legen sich nämlich meistens an der mit stark klebendem Ektoplasma versehenen Oberfläche so an, daß sie scheinbar von

der Seite zu entspringen scheinen.“ Auch ich war anfangs im Zweifel und glaubte seitliche Geißeln sicher zu sehen, jedoch ergab eine genaue Durchmusterung der Präparate, daß Herrn Zettnow's Auffassung, jedenfalls für die große Mehrheit der Individuen, die richtige ist.

Die Rohkultur von *Azotobacter agilis* in zucker- und phosphathaltigem Grabenwasser ist die Vorstufe für eine außerordentlich reiche Flora und Fauna, welche sich darin entwickelt, wenn man die Kultur bei ca. 18° C sich selbst überläßt. Schließlich wird die Flüssigkeit geradezu dick von einer Mikrowelt, welche, außer aus *A. agilis* selbst, vorzugsweise aus Spirillen und anderen Bakterien, und weiter aus Amöben und Monaden und bisweilen auch Infusorien besteht.

Es ist sicher bemerkenswert, daß die Oligonitrophilie einer so reichen Lebewelt zu Grunde liegen kann, wenn nur zureichender Luftzutritt ermöglicht ist.

7. Kurze Diagnose der Gattung *Azotobacter* und der bisher davon bekannten Arten.

Es ist vielleicht nützlich, an der Hand der beigegebenen Tafel, eine gedrängte Uebersicht der wichtigsten Merkmale der besprochenen oligonitrophilen Bakterien zu geben.

Azotobacter. Dicke, in jungem Zustande meist als große Diplokokken oder als Kurzstäbchen vorkommende Bakterien von 4—6 μ oder weniger, bisweilen jedoch noch viel größer, mit hyalinem, oft eine Vakuole führendem Inhalte und schleimiger Wand von sehr verschiedener Dicke. Jüngere Zustände mehr oder weniger beweglich vermittelt einzelner polarer oder in polaren 4—10-zähligen Bündeln angeordneten, kurzen Cilien, welche ungefähr so lang sind, wie die Bakterien selbst. Sporen fehlen. Ist oligonitrophil, das heißt, wachstumsfähig in Nährlösungen mit geeigneten Kohlenstoffquellen, welche sehr arm sind an Stickstoffverbindungen, assimiliert den atmosphärischen Stickstoff, und ist dadurch in Bezug auf die übrige Mikrowelt konkurrenzfähig. Darauf kann die Methode für Roh- und Reinkultur gegründet werden. Die Reinkulturen wachsen auf den verschiedensten Nährböden, am besten auf stickstoffarmen. Temperaturoptimum für das Wachstum nicht weit von 28° C.

Bisher sind die beiden folgenden Arten bekannt geworden:

1) *A. chroococcum*. Erzeugt treibende Rohmembranen auf Leitungswasser mit 2 Proz. Mannit und 0,02 Proz. K^2HPO^4 bei der Infektion mit Gartenerde. Nur wenige Individuen der jungen Kulturen bewegen sich durch eine einzelne polare Cilie, die Mehrheit ist in Ruhe. Junge Membranen entsprechen der Gattungsdiagnose, ältere bestehen aus Mikrokokken von sehr wechselnder Größe, welche zu Sarcinepaketen vereinigt bleiben und schleimige Wände besitzen. Diese älteren Zustände sind oft braun oder schwarz. Oxydiert zahlreiche Kohlenstoffverbindungen unter Bildung von Kohlensäure und Wasser; ist makroaërophil. Zwei Varietäten wurden neben der Hauptform in Gartenerde und im Grabenwasser gefunden.

2) *Azotobacter agilis*. Allgemein im Kanalwasser zu Delft. Roh- und Reinkultur wie bei voriger Art zu erhalten. Sehr stark beweglich durch Bündel polarer Cilien. Schöne, große, sehr durchsichtige, an kleine Monaden erinnernde Bakterien, oft mit deutlich sichtbarer Wand, Protoplasma, Zellkern, Granula und Vakuolen. Wächst auf den verschiedensten Böden, besonders gut auf Leitungswasseragar, mit 2 Proz. Glukose und $0,02 \text{ K}^2\text{HPO}^4$; kann mit organisch saueren Salzen einen grünen oder roten Farbstoff erzeugen, welcher weithin fort diffundiert. Verflüssigt Gelatine nicht.

Tafelerklärung.

Die 5 ersten Photographieen nach dem Leben, die 6. nach einem gefarbtten Präparate von Herrn Prof. Zettnow.

Fig. 1. *Azotobacter chroococcum*. Junge Kultur von 24 Stunden auf Leitungswasser mit Kaliumphosphat, 2 Proz. Agar, 2 Proz. Glukose. Nur einzelne Individuen bewegen sich. Vergr. 1000.

Fig. 2. *Azotobacter chroococcum*. Etwas ältere Kultur auf H^2O -Phosphat-Mannit-Agar, mitsamt einer Essigbakterie, um die dicken Schleimwände zu zeigen, in welche die Essigbakterien nicht eindringen können. Vergr. 500.

Fig. 3. *Azotobacter chroococcum*. Dunkelbrauner Sarcinezustand auf H^2O -Phosphat-Mannit-Agar. Die Sarcinepakete zu dick, um in einer Ebene photographiert werden zu können. Vergr. 1000.

Fig. 4. *Azotobacter chroococcum*. Involutionzustände auf H^2O -Phosphat-Glukose-Agar, vom Rande einer freiliegenden alten Kolonie. Besonders in den kleineren Zellen Fetttropfchen sichtbar. Vergr. 800.

Fig. 5. *Azotobacter agilis*. Kultur auf H^2O -Phosphat-Glukose-Agar, 2 Tage alt. Im Protoplasma ist der Zellkern sichtbar, sowie Vakuolen und Granula, in einzelnen sich teilenden Zellen der Kernspindel. Vergr. 1000.

Fig. 6. *Azotobacter agilis*. Cilienfärbung; Photographie nach einem Präparate von Herrn Prof. Zettnow, Berlin. Die Cilien meistens zu polaren Bündeln angeordnet. Vergr. 1000.

Nachdruck verboten.

Botanische Beschreibung einiger Bodenbakterien.

Beiträge zur Methode der Speciesbestimmung und Vorarbeit für die Entscheidung der Frage nach der Bedeutung der Bodenbakterien für die Landwirtschaft.

Von Dr. O. Gottheil.

Mit 4 Tafeln.

(Fortsetzung.)

Die Untersuchung der von den drei erwähnten Originalkulturen hergestellten Gelatineplatten ergab folgende Resultate. Die Kulturen von Stutzer und Bayer waren Reinkulturen von dem *Bacillus ellenbachensis*, während die Originalkultur von Caron aus *Bac. ellenbachensis* und *Bacillus mycoides* bestand. Letztere beiden Bakterien species stehen sich sowohl in morphologischer als auch physiologischer Beziehung außerordentlich nahe, und ich möchte hier gleich erwähnen, daß *Bac. mycoides* sich von *Bac. ellenbachensis* fast nur durch die Bildung sehr

Fig. 1.

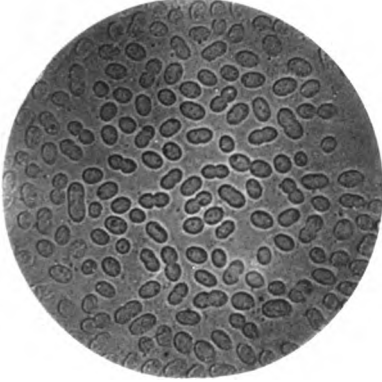


Fig. 2.



Fig. 3.

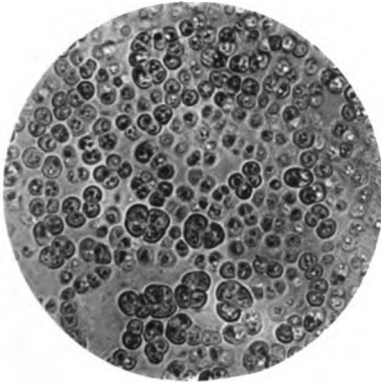


Fig. 4.

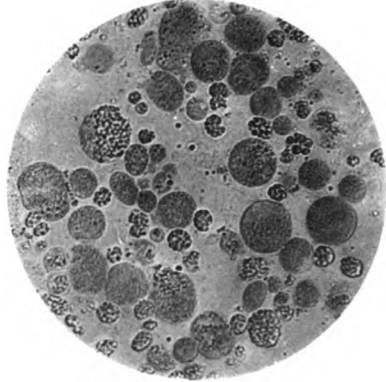


Fig 5.

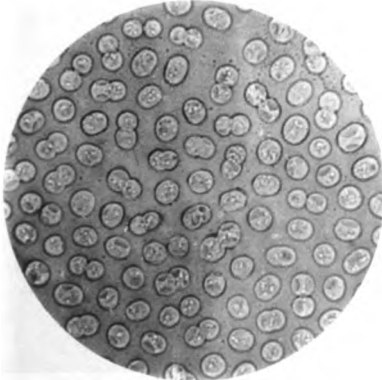


Fig. 6.

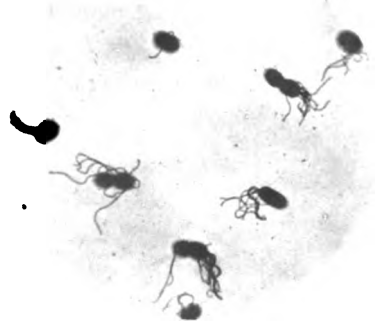


Fig. 1-4 *Azotobacter chroococcum*. Fig. 5-6 *A. agilis*.

Phot. A. van Delden.

Crayondruck von J. B. Obernetter, München

langer, vielzelliger Zellfäden, durch schwachen oder überhaupt gar keinen Schwärmzustand, durch relativ schwächeres Peptonisierungsvermögen der Gelatine, wie durch das bekannte charakteristische Wachstum der Gelatineplatten- und Gelatinestrichkultur unterscheidet, welches mir übrigens eben durch die Bildung der äußerst langen einstäbigen, nicht schwärmenden Zellfäden und durch das schwache Peptonisierungsvermögen bedingt zu werden scheint. Trotz dieser geringen Unterschiede müssen wir vorläufig die beiden Species auseinanderhalten. Wenn es durch Kulturverfahren gelingt, die beiden Formen einander gleich zu machen, so müssen die Species zusammengezogen werden. Es ist jedoch auch möglich, daß sich noch andere Unterscheidungsmerkmale finden lassen als die jetzt erkannten.

Da Herr Caron vermerkt hat „Kultur des hier von mir weiter gezüchteten *Alinitbacillus*“, ist nach den soeben von mir gemachten Ausführungen anzunehmen, daß das „*Alinit*“ unter Umständen auch aus diesen beiden Bakterien *Bac. mycoides* und *ellenbachensis* besteht. Diese Annahme wird unterstützt durch die Befunde von Hartleb und Stoklasa über die Wuchsformen der Kolonien von *Bac. ellenbachensis* in Gelatine und auf Agar. Diese Autoren sind zur Herstellung ihrer Kulturen vom *Alinit* direkt ausgegangen und beschreiben einige Kolonien in einer vollständig für *Bac. mycoides* zutreffenden Weise, die dagegen für eine Reinkultur von *Bac. ellenbachensis* nicht stimmt. Hartleb führt z. B. folgendes über Tiefenkolonien (Bd. V. p. 708) auf Traubenzuckeragar an: „Die völlig im Inneren des Nährbodens entwickelten Tiefenkolonien, die meist in geringer Anzahl vorhanden sind, bestehen aus zuweilen weit in dem Nährboden sich strahlig verbreitenden einfachen Scheinfäden, die mikroskopisch ganz das Aussehen eines zarten Pilzmyels haben.“ Stoklasa fand auch weiter folgendes für die Wuchsform auf Agar für *Bac. ellenbachensis* (für *Bac. mycoides* aber nicht) charakteristisch: (1898. Bd. IV. p. 76). „Strichkultur: Am Belage ist späterhin eine Wachstumszunahme nicht mehr wahrzunehmen. Dahingegen kann sich Tiefenwachstum einstellen. Zwischen dem 8. und 15. Tage pflegen im unteren Drittel des Strichs von der Unterfläche des Belags dicht gedrängt wurzelförmige Ausläufer bis zu 1,5 mm Tiefe in den vegetationsfreien Agar einzudringen. Krüger und Schneidewind hatten aus dem *Alinit* die verschiedenartigsten Koloniebildungen auf der Gelatineplatte erhalten, deren Beschreibungen ich ja bereits schon vorher referiert habe. Ich halte es nicht für ausgeschlossen, daß die gefundenen Schimmelpilzvegetationen aus *Mycoides*-Kolonien bestanden haben; es ist gesagt: „Die beiden ersten uns zur Verfügung stehenden Proben lieferten merkwürdigerweise bei wiederholten Untersuchungen und Anwendung von Nährböden verschiedenster Art nur Schimmelpilzvegetationen, was bei der Widerstandsfähigkeit einer dem Präparat zugesprochenen Bakterienart — es handelt sich um eine endogene sporenbildende Art — verwundern mußte, und wofür wir keine über Zweifel erhabene Erklärung gefunden haben.“

Die Plattenkulturen, welche ich mit der von Caron erhaltenen Kultur ausgeführt hatte, zeigten einmal fast nur schimmelpilzähnliche *Mycoides*-Kolonien, während ein anderes Mal nur wenige *Mycoides*-Kolonien und viele *Ellenbachensis*-Kolonien vorhanden waren.

Herr Prof. Frank hatte im Jahre 1886 in der vorher angeführten Arbeit über die Mikroorganismen des Erdbodens bereits einen *Bac. terrigenus* beschrieben, welcher möglicherweise mit dem *Bac. ellenbachensis* identisch ist. Ich habe die von Herrn Prof. Frank für *Bac. terrigenus* gemachte Diagnose auf p. 51 kurz zusammengefaßt.

Leider war es mir nicht möglich, nach der vorliegenden Diagnose des *Bac. terrigenus* diesen *Bacillus* mit Sicherheit mit dem *Bac. ellenbachensis* zu identifizieren; eine Kultur konnte Herr Prof. Frank mir seiner Zeit leider auch nicht mehr zur Verfügung stellen. Es wäre die eventuell vergleichsweise ausgeführte Durcharbeitung dieser beiden Bakterienkulturen insofern von Wert gewesen, als wir für die Bezeichnung der Species den ursprünglichen Namen der Species und den Autornamen hätten beibehalten können. Nachdem ich nun das Wichtigste, was über *Bacillus ellenbachensis* in der Litteratur vorhanden ist, angeführt habe, will ich dazu übergehen, in folgendem eine möglichst vollständige Diagnose für *Bacillus ellenbachensis* zu geben.

Beschreibung von *Bac. ellenbachensis* Stutzer.

Gelatineplattenkultur. Nach 24 Stunden sind schon kleine punktförmige Kolonien vorhanden; nach 2—3 Tagen sehen die Tiefenkolonien, bei mikroskopischer Beobachtung, wie braune, mehr oder weniger rundliche, körnige Häufchen aus; die Oberflächenkolonien sind meistens schon weiter entwickelt und haben die Gelatine meistens schon schwach verflüssigt. Ist man bei Herstellung der Plattenkultur von abgekochtem Sporenmateriale ausgegangen, so findet man nach 2 Tagen die Tiefenkolonien fast immer mit vielen seitlichen, hyphenähnlichen Ausläufern versehen. Diese Ausläufer bestehen aus zu vielen zusammenliegenden, sich nach den Enden zuspitzenden, zopfig gewundenen Zellfäden. Die spitzen Enden dieser Ausläufer bestehen aus einstäbigen, ungefähr 5-langen Zellfäden, während der andere Teil der Ausläufer aus vielstäbigen Zellfäden besteht, deren Stäbe normalerweise einlang sind und sich meistens deutlich schiebend durch die Gelatine bewegen.

Dieses Ausläuferwachstum scheint von der Konsistenz und Art der Gelatine abhängig zu sein. Die anfangs entwickelten Oberflächenkolonien sinken durch allmähliche Verflüssigung der Gelatine in den Nährboden hinab, bilden eine schalenförmige Vertiefung und wachsen relativ schnell gleichmäßig peripher weiter. Diese unregelmäßigen, dunkleren, nicht scharf konturierten primären Kolonien werden dann umgeben von einer breiten, hellen Zone, die aus dicht verfilzten, radiär auslaufenden Fäden besteht; diese werden wieder umsäumt von einer etwas dunkleren und schmälern Randzone von gleichem Aussehen, aus welcher kurze, streng radiär

geordnete, starre Fäden in das Nährsubstrat austreten. Beide Zonen liegen innerhalb des Verflüssigungsnapfes, der periphere Strahlenkranz außerhalb desselben. Die Peptonisierung schreitet nun weiter rasch vorwärts. Gelatinestichkultur: Die Kolonie im Gelatinestich ist bald ihrer ganzen Länge nach sedimentartig entwickelt; auf der Oberfläche bildet sich ein lockeres Häutchen, welches nach Verflüssigung der Gelatine niedersinkt. Ist die Gelatine relativ hart, so beginnt die Verflüssigung der Gelatine erst napfförmig, erreicht dann die Glaswand und schreitet in gleichmäßig cylindrischer Form weiter. Auf dem Boden der verflüssigten Gelatine sammelt sich ein sedimentartiger Satz an. Bei relativ weicher Gelatine kann der Fall eintreten, daß die Verflüssigung der Gelatine schlauchförmig beginnt. Die Kolonie wird dann fortschreitend längs des Stiches weiter entwickelt, und die ganze Gelatinesäule wird in relativ kurzer Zeit vollständig verflüssigt. Unter Anwendung verschiedener alter und mehr oder weniger oft erhitzter Gelatine erhielt ich weiterhin unter 15 ausgeführten Stichkulturen drei Kulturen mit mehr oder weniger seitlichen Ausläufern, die anderen Kulturen entsprachen den Wuchsformen, welche ich soeben beschrieben habe. Die Zeitdauer, in welcher die Gelatine verflüssigt wurde, war großen Schwankungen unterworfen. Bei einer relativ festen Gelatine war die Verflüssigungssäule nach 2 Monaten 1,5 cm hoch, während bei einer anderen Gelatine schon nach 6 Wochen die ganze 4 cm hohe Gelatinesäule verflüssigt war. Agarstrichkultur. Nach ungefähr 15—20 Stunden sind rundliche, weiße, tröpfchenförmige Kolonien entwickelt, welche weiterhin verschmelzen, so daß nach 1—2 Tagen die Agarfläche von einer etwas glasigen, weißlichen, fast glatten, glänzenden, nach dem Kondenswasser zu deutlich häutigen Kolonie bedeckt ist; nach 40 Stunden ist dieselbe meistens dicker, grauweiß, glasig, matt glänzend. Beobachtet man die Kolonie mit der Lupe, so erkennt man auf der Oberfläche derselben feine Runzeln. Nach ungefähr 64 Stunden war die Kolonie grauweißlich, glänzend, relativ dick, häutig; noch später gleichmäßig homogen, graubräunlich oder auch häutig runzlig. Viele Wochen alte Agarkulturen waren relativ dicker, sahen körnig und mehr oder weniger bräunlich aus. Wachstum auf steriler Möhrenscheibe. Nach ungefähr 5 Tagen ist die Möhrenscheibe von 2 cm Durchmesser mit einer dünnen, feuchten, weißlichen, glänzenden Kolonie bedeckt, welche aus teilweise lebhaft schwärmenden Einzel- und Doppelstäbchen besteht; nach 14 Tagen war dieselbe flach, weißlich, homogen und bestand aus Ruhestäbchen, Einzel- und Doppelstäbchen, welche große Fettmassen gespeichert hatten; nach mehreren Wochen war die Kolonie homogen, grau. Kartoffelkultur. Die nur sehr schlecht sich entwickelnde Kolonie wurde weiß, später gelblich, etwas erhaben, matt, körnig.

Entwicklungsgang von *Bacillus ellenbachensis* auf Dextroseagar. Die Sporen sind ellipsoidisch und länglich, oft dünn walzenförmig (Fig. A a, b, c, d), 0,83 μ breit und 1,7 bis 2,2 μ lang, vereinzelte besitzen schwache Spitzen, wie Fig. A b, C c. Die exakte Beobachtung der Sporenform gelingt gut mit Hilfe von

Chlorzinkjodlösung; die Sporenmembran ist ohne Reagens nicht sichtbar; erst nach Durchfärbung mit Safranin oder noch besser Fuchsin tritt dieselbe deutlich hervor (Fig. A a, C a, b), eine Differenzierung derselben in Intine und Exine ist (mit Immersion Zeiß $1/13$, Ap. 13) nicht zu unterscheiden. Als besonders charakteristisch kann, wie auch bei *Bacillus mycoides*, die Erscheinung angesehen werden, daß die reifen Sporen noch meistens, wie in Fig. C a, b, c, d, e, von den Sporangienmembranen umgeben sind; letztere werden gut nach Durchfärbung mit Safranin- oder Fuchsinlösung erkennbar. Wenn man viel Sporenmateriale im Reagenzcyliner mit wenige Tropfen Kalilauge erwärmt, dann mit Essigsäure neutralisiert und hierauf etwas von demselben auf dem Objektträger mit Fuchsin schwach durchfärbt, so sind die Sporangienmembranen noch deutlich zu erkennen, woraus hervorgeht, daß die die Sporen umgebenden Gebilde keine Plasmaanhängsel, sondern Membranen sind. Die Sporen keimen auf dem Agar nach ungefähr 5 Stunden, in Nährlösung in der feuchten Kammer nach ungefähr 7 Stunden; sie schwellen vor der Keimung stark an und keimen polar (Fig. D a, b, c, d, e). Häufig findet man noch die Sporangienmembranen an den Sporenmembranen als Auhängsel, wie z. B. in Fig. D a, b, c, festhaften, was ja auch bereits von Kolkwitz angeführt wurde. Die Keimstäbchen werden meistens bis 3- lang, ungefähr $1,11 \mu$ breit, und beginnen sofort lebhaft zu schwärmen. Nach 6—7 Stunden sind Einzel- und Doppelstäbchen, 6- und bis mehrstäbige Zellfäden entwickelt, deren Stäbe meistens 1- bis 3-lang, $1,39 \mu$ breit, homogen sind und große Vakuolen angelegt haben (Methylenblaureaktion) (Fig. E, F a, b, c, d). Nach ungefähr 12 Stunden haben wenige Stäbchen schon Fett gespeichert; entweder findet man in den Stäbchen einzeln liegende Fetttropfen, wie in Fig. H, I, oder, wie es seltener der Fall ist, mehrere kleine Fetttropfchen, wie in Fig. G a, b. Im Kondenswasser finden sich meistens lebhafte, einlange Einzel- und Doppelschwärmer, welche $1,39$ — $1,5 \mu$ breit sind; der Schwärmzustand in der Kolonie währt verschieden lange, meistens findet man selbst noch nach 40 Stunden, viele lebhafte Schwärmer. Wenn die Schwärmer zur Ruhe kommen, beginnen sie sich weiter lebhaft zu teilen und lange vielstäbige Zellfäden auszubilden. In der 17- bis 30-stündigen Agarkolonie, welche meistens häutig, etwas körnig, glasig, weißlich aussieht, sind meistens 2-, 3- bis 12-stäbige Zellfäden entwickelt, deren Stäbe meistens 1- bis 2- lang sind und meistens viele kleinere, doch oft auch bis sporengroße und selbst noch größere, Fetttropfen gespeichert haben; in vielen Stäbchen sind vereinzelte Fetttropfen entweder in der Mitte oder seitlich abgelagert (Fig. H, I, K, b, c). Kolkwitz hatte auch große Tropfen (Fetttropfen) in den Stäbchen von *Bacillus ellenbachensis* gefunden, welche auf dextrosehaltiger Kartoffel gewachsen waren (s. p. 50). Daß diese Tropfen Fett sind, ist mit der Sudan-Methylenblaufärbung nachweisbar. Im Kondenswasser findet man viele Einzel- und Doppelstäbchen, vereinzelte noch schwärmend, 1- bis 2-zellig, homogen oder mit Fetttropfchen. Nach ungefähr 30—40 Stunden ist die Agarfläche

von einer relativ dicken, nicht porzellanartig weißen, sondern mehr grauweißen, matt glänzenden, etwas welligen, in der Nähe des Kondenswassers häutigen Kolonie bedeckt. Im Kondenswasser findet man vorherrschend 4- bis höchstens 20-stäbige Zellfäden, weniger Einzel- und Doppelstäbchen, deren Stäbe 1- bis 3- lang sind und häufig nur wenige, aber große Fetttropfen enthalten. Sowohl in diesem mehrstündigen, als auch in älterem Material fand ich in einigen mehrstäbigen Zellfäden wenige besonders kurze, etwas abgerundete, vollständig mit Fett gefüllte Zellen (Fig. M, R x). In der Kolonie auf der Agarfläche sind Einzel-, Doppelstäbchen und vielstäbige Zellfäden, deren Stäbe meistens von normaler Dicke, 1- bis 2-, seltener 3-zellig (Chlorzinkjod) und mit Fetttropfchen angefüllt sind, zu finden; im oberen Teile der Kolonie sind häufig schon wenig Sporangien entwickelt, welche aber meistens noch nicht vollständig fettfrei sind (Fig. L a, c). Nach 64—80 Stunden war die Kolonie grauweißlich, glänzend, häutig, relativ dick, feinkörnig. Im Kondenswasser findet man jetzt hauptsächlich 10- bis 20-stäbige Zellfäden, deren Stäbe 2- bis 3-lang sind und sehr häufig nur wenige, aber große Fetttropfen enthalten, in der Kolonie auf der Agarfläche größtenteils Sporangien, welche meistens fettfrei, walzenförmig, häufig aber auch etwas angeschwollen und abgerundet sind (Fig. L a, b, c, d, e), Einzelsporangien und 2- bis 10-, seltener mehrstäbige Zellfäden mit aus einlangen Sporangien bestehenden Stäbchen, selten auch Zellfäden, welche einstäbig- 3- bis mehr lang sind und aus 3 bis mehr einlangen Sporangien bestehen; doch vorherrschend sind die Sporangien im Begriff (Fig. L c) sich abzurunden; die Sporen werden in ihnen vorherrschend mittel-, seltener endständig ausgebildet. Nach ungefähr 88 Stunden war die Kolonie homogen, weißlich, relativ dick. Die Zellen werden bei Herstellung der Geißelfärbung leicht plasmolisiert (Fig. N). An den normalen, nach Loeffler gefärbten Schwärmern erkennt man peritriche Begeißelung; 6—8 Geißeln an einem einlangen Stäbchen (Fig. O, P). Interessant war die Erscheinung einer Krystallbildung innerhalb eines Stäbchens, wie in Fig. Q; das letztere schien vollständig abgestorben zu sein, denn mit Methylenblaulösung war kein Plasma mehr nachzuweisen. Hinzufügen möchte ich noch, daß *Bac. ellenbachensis* sich bei 15° C schlechter entwickelt; viele Stäbchen schwellen dann schon in jungem Materiale mehr oder weniger oft keulenförmig an und teilen sich, zerfallen, so daß schließlich vollständig anormale Zellen, welche aber oft auch schwärmten, vorhanden sind.

Entwicklungsgang in Nährlösung. Die Sporen von *Bacillus ellenbachensis* keimen in Nährlösung III (Pepton 1,0, mineral. Lösung 100). Nach ungefähr 2 Tagen ist eine dünne, leicht abschüttelbare Kahnhaut entwickelt, dieselbe besteht aus außerordentlich langen, vielstäbigen Zellfäden, deren Stäbe bis 10-lang, und (Chlorzinkjod) bis 10-zellig sind. In der Lösung findet man viele homogene, lebhaft Einzel- und Doppelschwärmer; nur wenige haben Fetttropfchen gespeichert. Nach 8 Tagen ist die dünne, flockige Kahnhaut noch vorhanden, fällt jedoch schon bei leisem Anrühren der Kultur zu Boden. Es sind jetzt sehr

lange vielstäbige Zellfäden entwickelt, deren Stäbe bis 50-läng sind und Fetttröpfchen, in gleicher Weise wie auf Agar, gespeichert haben; gleichzeitig waren auch schon Sporen ausgebildet. Später findet man Involutionsformen und dickere und dünnere Stäbchen, von denen viele vollständig in Auflösung begriffen sind. Nach 14 Tagen ist die Lösung nach dem Umschütteln trübe, flockig.

Wachstum in den verschiedenen Nährlösungen. Nach 4-wöchentlicher Entwicklung bei 28°. Nährlösung O. I. I + M. und III. Trübe, flockig durchsetzt, gegen Lakmus alkalisch; die Entwicklung in Nährlösung ist unregelmäßig stark; manchmal Kahmhautbildung. II. Lösung undurchsichtig trübe, IV, V, V₃, IX. Die Lösungen waren nur äußerst schwach getrübt, ungesunde Entwicklung, Involutionsformen. V_α, V_γ, V_δ. VI, VII, VIII, X, XI. Keine Entwicklung. Nachdem die Lösungen 4 Wochen bei 28° und 2 Monate bei Zimmertemperatur gestanden hatten, war in folgenden Lösungen noch eine ganz schwache Entwicklung eingetreten: V_α, X, V_δ, V_γ, VI.

Intensitätstabelle.

0	I	I + Marmor	II	III	IV	V	V _α	V _β	V _γ	V _δ	VI	VII	VIII	IX	X	XI
2	2-3	2	4	2	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0

Alkalibildung. Indikator: Dimethylamidoazobenzol. 10 ccm Nährlösung III = 0,8 ccm $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure; 10 ccm nach 4-wöchentlicher Entwicklung bei 28° und 14 Tagen bei Zimmertemperatur = 4 ccm $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure. Alkalibildung in 10 ccm = 3,2 ccm Normalschwefelsäure. Diastasebildung (in Nährlösung III und V_α) kaum nachweisbar. Gasbildung findet nicht statt.

Meine Bestimmung des von Burchard stammenden Materials von Bact. Petroselini gründet sich auf folgende Momente, welche ich untersucht habe: Gelatineplattenkultur, Gelatinestichkultur, Agarstrichkultur, Entwicklungsgang auf Dextroseagar (genaue Untersuchung der Morphologie) Intensität des Wachstums in Nährlösungen.

Wichtigste Merkmale der Species „Bacillus ellenbachensis“.

Spore: Sporengroße: 0,83 μ breit, 1,7—2,2 μ lang. Sporenform: Fig. A a, b, c, d. C a, b, c, d, e. Die Sporangienmembran bleibt lange erhalten; Exine und Intine sind nicht zu unterscheiden. Relativ starke Anschwellung der Sporen vor der Keimung; sie keimen polar. Die Sporangienmembranen hängen bei der Keimung häufig noch an den Sporenmembranen fest (Fig. D a, b, c, d, e). Die Keimstäbchen werden bis 3-läng, und ungefähr 1,11 μ breit; sofort nach der Keimung beginnen die Stäbchen lebhaft zu schwärmen. Auf Agar nach 6 Stunden sind Einzel-Doppelstäbchen, seltener 6-stäbige Zellfäden entwickelt, deren Stäbe 1- bis 3-läng sind (Fig. E, F a, b, c, d); nach 12—40 Stunden haben die Stäbchen viele kleine, oft aber auch bis sporen große Fetttröpfchen gespeichert (Fig. G, K a; H, I, K). Nach 20 Stunden sind vielstäbige Zellfäden vorhanden; die Stäbchen sind 1,39 bis 1,5 μ breit; nach 40—64 Stunden sind Sporangien ausgebildet, 2- bis 10-, seltener mehrstäbige Zellfäden mit aus einlangen Sporangien bestehenden Stäbchen; meistens schwellen die fertig entwickelten, fettfreien Sporangien etwas an und runden sich ab (Fig. L a, b, c, d, e). An den nach Loeffler gefärbten Schwärmern erkennt man peritriche Begeißelung (Fig. O, P).

Die Intensität des Wuchses in den Nährlösungen I, II, III = 2—4 und V, V α , VI, VII, X = 0 ist charakteristisch. Gelatineplattenkultur: Nach 2—3 Tagen, bei Zimmertemperatur, sind rundliche, körnige Tiefenkolonien mit fast stets seitlichen hyphenähnlichen Ausläufern entwickelt; das Ausläuferwachstum kann auch sehr schwach ausfallen. Die Oberflächenkolonien vergrößern sich schnell, verflüssigen napfförmig die Gelatine außerhalb des Verflüssigungsnapfes, peripher, wird ein Strahlenkranz gebildet. Agarstrichkultur: Nach 40 Stunden ist die Kolonie dick, grauweißlich, glasig matt glänzend, mehr oder weniger häutig. Eine ältere Kolonie wird bräunlich. Möhrenkultur: Die Möhrenscheibe wird nach 5—8 Tagen von einer dünnen weißlichen, glänzenden Kolonie bedeckt. Alkalibildung findet in Nährlösung III statt. Diastasebildung ist in Nährlösung III und V α kaum nachweisbar. Die Gelatine wird verflüssigt.

Bacillus mycoides Flügge (Fig. VI).

Möglicherweise synonym: *Bacillus ramosus* (Eisenberg, Lehrbuch). *Bacillus ramosus* Frankland (Ueber einige typische Mikroorg. im Wasser und im Boden. Zeitsch. f. Hyg. Bd. II. 89. p. 388). *Wurzelbacillus* Fränkel (Fränkel, Bakterienkunde. 1890. p. 241). *Bacillus radicosus* Zimmermann (Die Bakterien unserer Trink- und Nutzwässer, insbesondere das Wasser der Chemnitzer Wasserleitung. I. Reihe 90. p. 30). *Bacillus implexus* Zimmermann (ibidem. I. Reihe p. 32.) *Bacterium casei* (Ad ametz. Bakt. Untersuchung über den Reifeprozess der Käse. Landw. Jahrb. Bd. XVIII. 89 p. 248). *Bacillus intricatus* Russell (*Cladotrix*) (Zeitschrift für Hygiene. Bd. XI. 92. p. 191. Unters. über im Golf von Neapel lebende Bakterien). *Bacillus Brassicae* Pommer (Beitrag zur Kenntnis der fadenbildenden Bakterien. Mitt. aus dem botan. Justitute zu Graz. 1886 Heft 1 und Koch. Bot. Ztg. 88).

Litteratur: Flügge 1886, 96. Marchal 1894. Lehmann und Neumann 1896 Migula 1900. Grethe 1897 (Engelhardt 1895, nicht brauchbar).

Diese Species hatte ich durch die Liebenswürdigkeit des Herrn Professor Flügge erhalten. Ich habe dieselbe nur deshalb mit in Untersuchung gezogen, weil sie eine so oft im Boden gefundene Form ist, die z. B. mit *Bacillus ellenbachensis*, wie schon gesagt, vieles Uebereinstimmende zeigt und deshalb genauer charakterisiert werden mußte.

Bevor ich auf die genaue Beschreibung von *Bacillus mycoides* eingehe, will ich erst kurz das angeben, was bis jetzt über *Bacillus mycoides* gesagt ist.

Flügge (1886). Der Autor der Species sagt: „*Bacillus mycoides*, *Erdbacillus* (mycelartig wachsender *Erdbacillus*). Ziemlich dicke, den Milzbrandbacillen annähernd gleich große, bewegliche Bacillen, oft lange Scheinfäden bildend. In den Fäden bilden sich ovale, stark glänzende Sporen in regelmäßigen Abständen, ebenso in einzelnen Bacillen; die Spore nimmt ungefähr die Mitte des Bacillus ein. — In Gelatineplatten entstehen weiße Trübungen, in denen weißliche feine Fäden von unregelmäßigem, wirrem, verästeltem Verlauf hervortreten. Dieses Netzwerk von Fäden erreicht noch 12—20 Stunden bereits eine Ausdehnung von circa 10 mm und erinnert so sehr an ein Pilzmycel, daß man zweifelhaft sein kann, ob ein solches oder eine Spaltpilzkolonie vorliegt. Die Fäden bleiben zart und fein, solange sie in der Tiefe der Gelatine liegen, verbreiten sich bedeutend und verlieren die scharfe Begrenzung, wenn sie an die Oberfläche gedrungen sind. Bald treten die einzelnen Kolonien durch solches Fadengewirr in Verbindung. Mit schwacher Vergrößerung sieht man die Zu-

sammensetzung der Fäden aus Bündeln von Bacillenfäden, die meist locker nebeneinander liegen, zuweilen aber dicht verfilzt sind und im ganzen eine vielfach gekrümmten und gewundenen Verlauf zeigen. Mit dem Durchbrechen der Fäden an der Oberfläche tritt gleichzeitig Verflüssigung der durch die Ausbreitung der Kolonien diffus getriebenen obersten Schicht ein. — Im Stich dringen zunächst vom Stichnetkanal ausgehend ebenfalls feinste Härchen in dichter Reihe in die Gelatine vor, weiterhin vermischt die fortschreitende Verflüssigung die Wachstumscharaktere. Auf Kartoffeln entsteht eine langsam sich ausbreitende weißliche schleimige Auflagerung. Die Bacillen werden nahezu constant in jeder Bodenprobe aus oberflächlicher Acker- und Gartenerde erhalten, wenn man diese Probe entweder direkt oder auf die Gelatineplatte aufstreut oder einen wässrigen Extrakt hergestellt und der Gelatine beimengt.

Flügge (1896 p. 199) ist weiter vermerkt: „Wurzel- oder Erdbacillus“ „identisch mit *Bacillus ramosus* (Eisenberg). In Wasser und namentlich im Erdboden sehr verbreitet. Bacillen etwas größer und plumper wie die Heubacillen, mühsam beweglich, häufig in langen Scheinfäden. Sporen groß, mittelständig, ellipsoidisch, leicht durch Doppelfärbung darzustellen. Wachstum recht charakteristisch. Aërobier. — In Gelatineplatten Kolonien, die durch ihre ausgedehnte Verästelung an Schimmelpilze erinnern. Bald tritt Verflüssigung ein. Im Gelatinestich entsteht das Bild eines umgekehrten Baumes. Nach der Verflüssigung klärt sich die Gelatine, am Grund sammelt sich ein Bodensatz, auf der Oberfläche eine Decke. Auf Agar wächst der Bacillus ebenfalls in Gestalt eines schnell sich ausbreitenden, wurzelartigen Geflechts, später wird der Rasen dicker, grauweiß und feucht. Die Ausläufer sind dann nur an der Peripherie zu erkennen. Auf Kartoffeln schmieriger weißer Belag. Nach Marchal besitzt der Wurzelbacillus in besonderem Grade die Fähigkeit, Eiweiß zu zersetzen. Durch seine Thätigkeit geht fast die Hälfte des Eiweißstoffes in Ammoniak über. Für die Vorgänge im Boden wird das sehr wichtig sein.“ Marchal hat ebenfalls über die Morphologie des *Bac. mycoides* in *Agricult. Science* Vol. VIII. 1894 Mitteilungen gemacht. Leider habe ich das Buch nicht erhalten, und diese Angaben somit nicht berücksichtigen können. Einem Referat, im Centralblatt für Bakteriologie. II. Abt. Bd. I. p. 753, entnehme ich folgendes aus der Arbeit (The production of ammonia in the soil by microbes) von Emile Marchal:

„*Bacillus mycoides* besitzt die Eigenschaft, organisch gebundenen Stickstoff — als Pepton — in Ammoniakstoff zu zerlegen.“ „*Bacillus mycoides* hat mit der Ueberführung von 46 Proz. des vorhandenen organischen Stickstoffs in Ammoniakstickstoff weitaus die energischste Wirkung geäußert.“ Lehmann und Neumann haben auch in ihrem Lehrbuch der speziellen bakteriologischen Diagnostik. 1896 p. 290 *Bac. mycoides* beschrieben. Die Diagnose ist etwas gegen die von Flügge erweitert. Die Angaben über die Gelatineplatten-, die Gelatinestichkultur, wie auch die Beschreibung des „mikroskopischen Aussehens“ stimmen mit denen von Flügge überein. Dagegen fanden Lehmann und Neumann im Gegensatz zu Flügge, keine Eigenbewegung. Hinzugefügt ist folgendes: „Stäbchen von 1,6—3,6 μ Länge und 0,8 Breite. Färbbarkeit auch nach Gram. Ansprüche an Nährböden: „Gering, wächst auch bei Sauerstoffabschluss kümmerlich.“ „Agarplatte: a) natürliche Größe: Den Kolonien der Gelatineplatte anfangs äußerst ähnlich, aber derber. Das weitere Wachstum ist absolut unregelmäßig und man findet sowohl Kolonien mit centralen, stark ausgeprägten Hauptzweigen, als auch solche, in denen die Mittelpartie zart bleibt und um dieselbe herum das Wachstum in ringförmiger Anordnung vor sich geht. b) 50-fache Vergrößerung: Genau wie die Kolonien der Gelatineplatte. Farblos bis zart grau, durchscheinend. (42. I) zeigt eine Kolonie mit freiem Mittelpunkt. (42. VII) einen Teil davon bei 150-facher Vergrößerung. Agarstich. Stichnetkanal: Parallele, gewöhnlich ungleich lange, pinselförmige Aestchen, zart grau, aber etwas derber, wie im Gelatinestich. Oberfläche genau wie die Kolonien auf der Agarplatte. Hellgrau, saftig, glänzend. Chem. Leistungen: Es fehlt H_2S -Bildung“.

Migula (1900) giebt p. 539 als Litteratur für *Bac. mycoides* nur die Arbeit von Flügge (1886); doch ist die Beschreibung gegen die bei Flügge etwas erweitert. Es ist somit anzunehmen, daß Migula *Bacillus mycoides* selbst untersucht hat. Sicher ist dieses aber nicht durchgreifend geschehen, da er sagt: „Die Keimung wurde bisher nicht beobachtet; ebensowenig ist die Be-

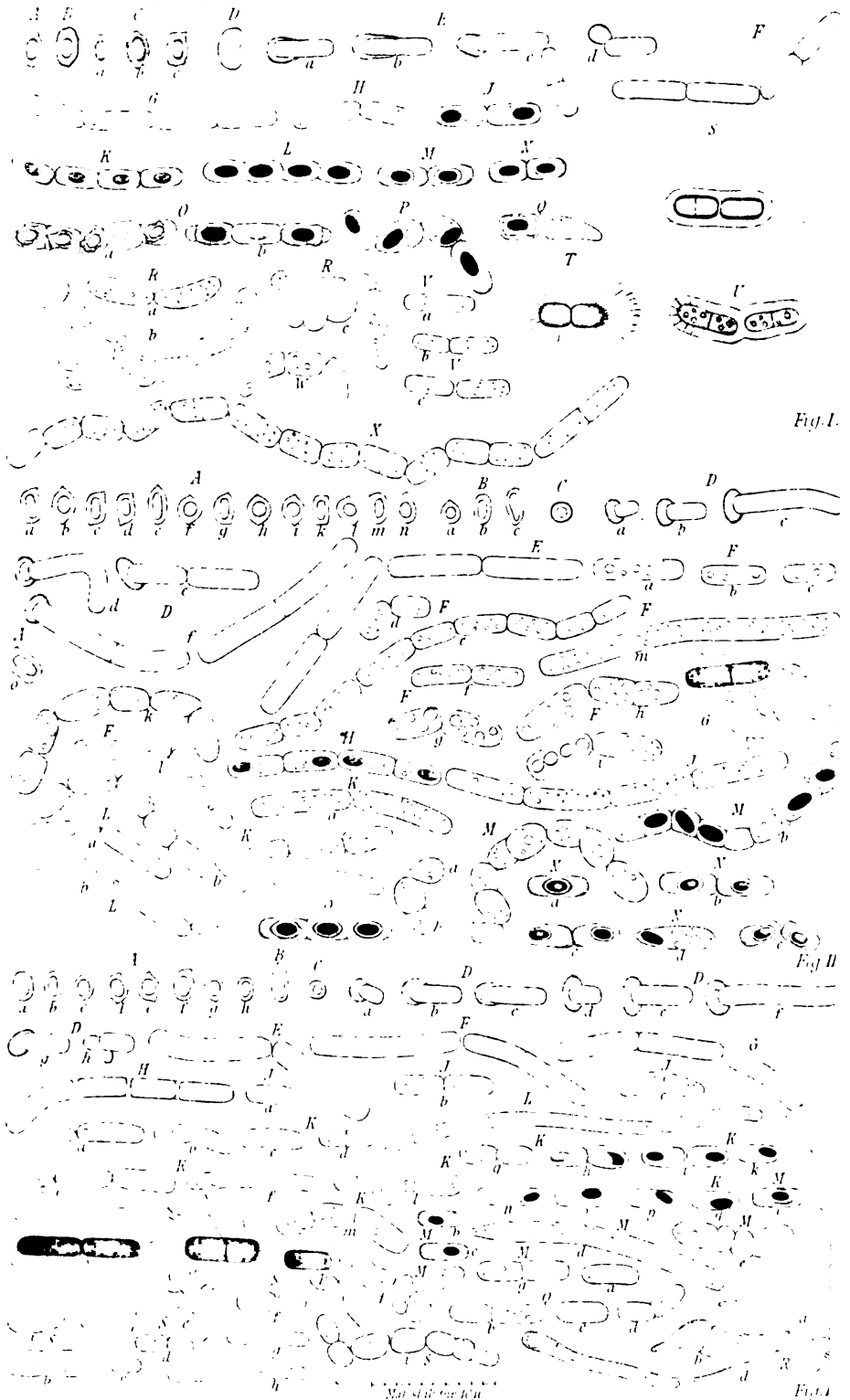


Fig. I.

Fig. II.

Fig. III.

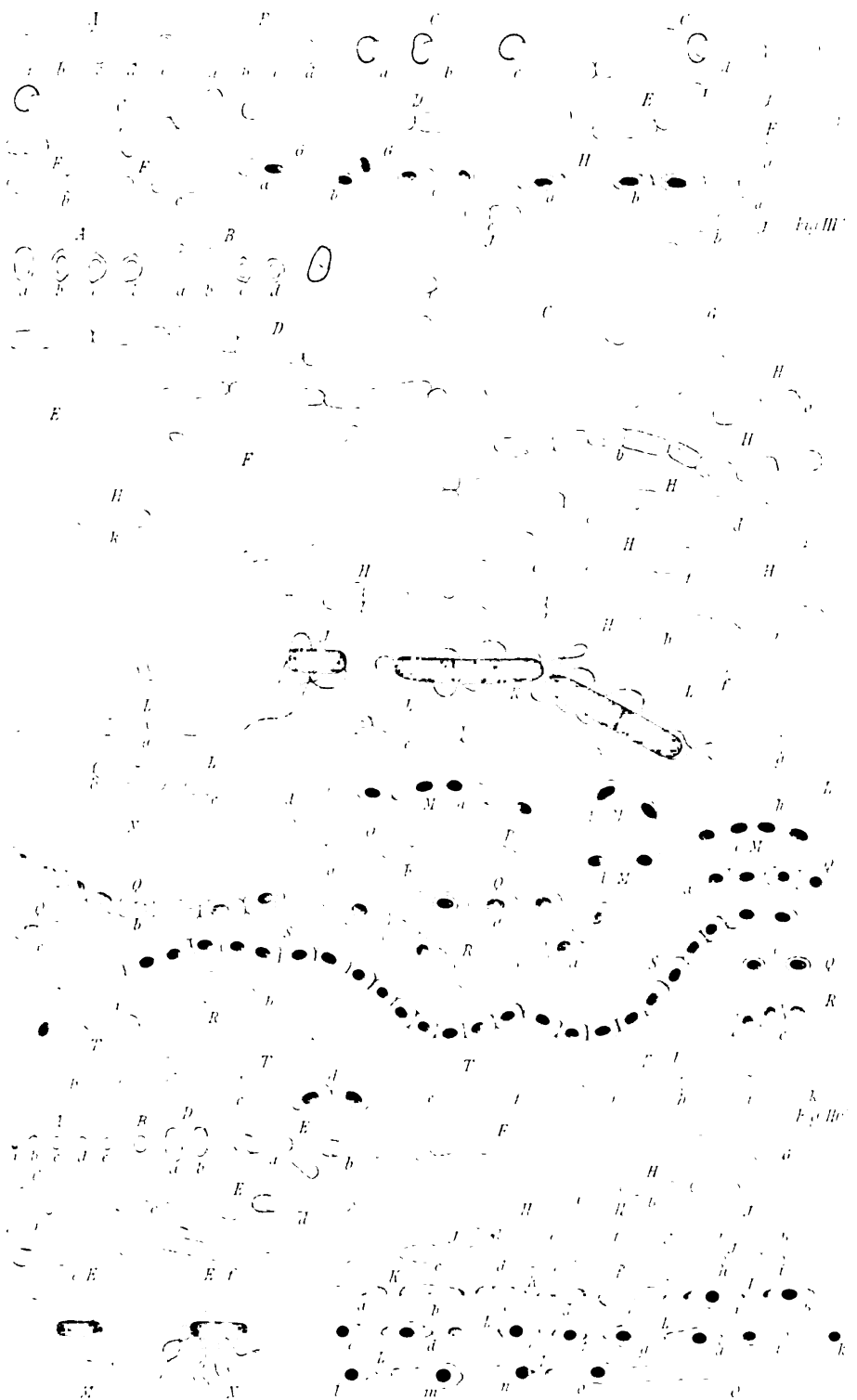
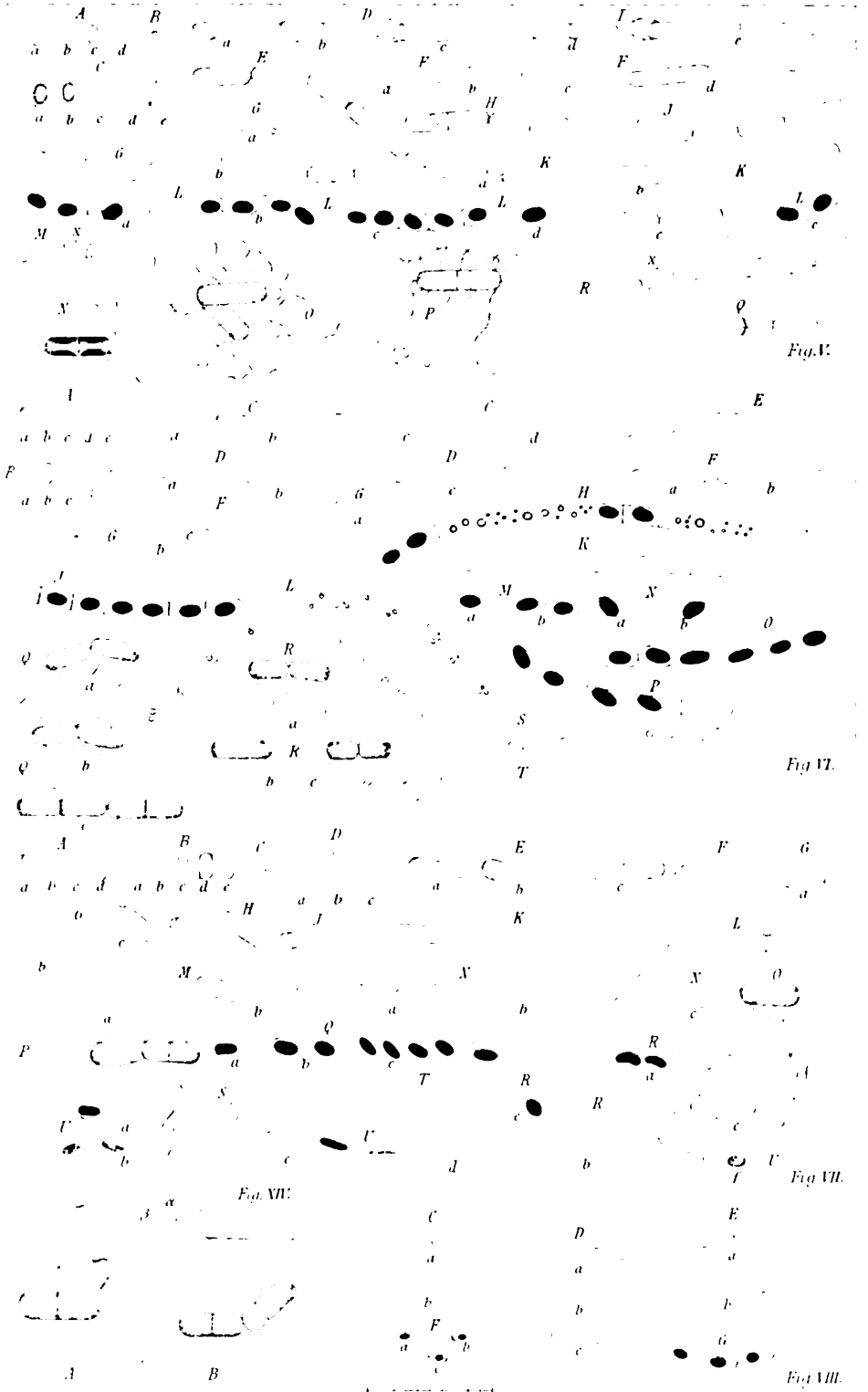
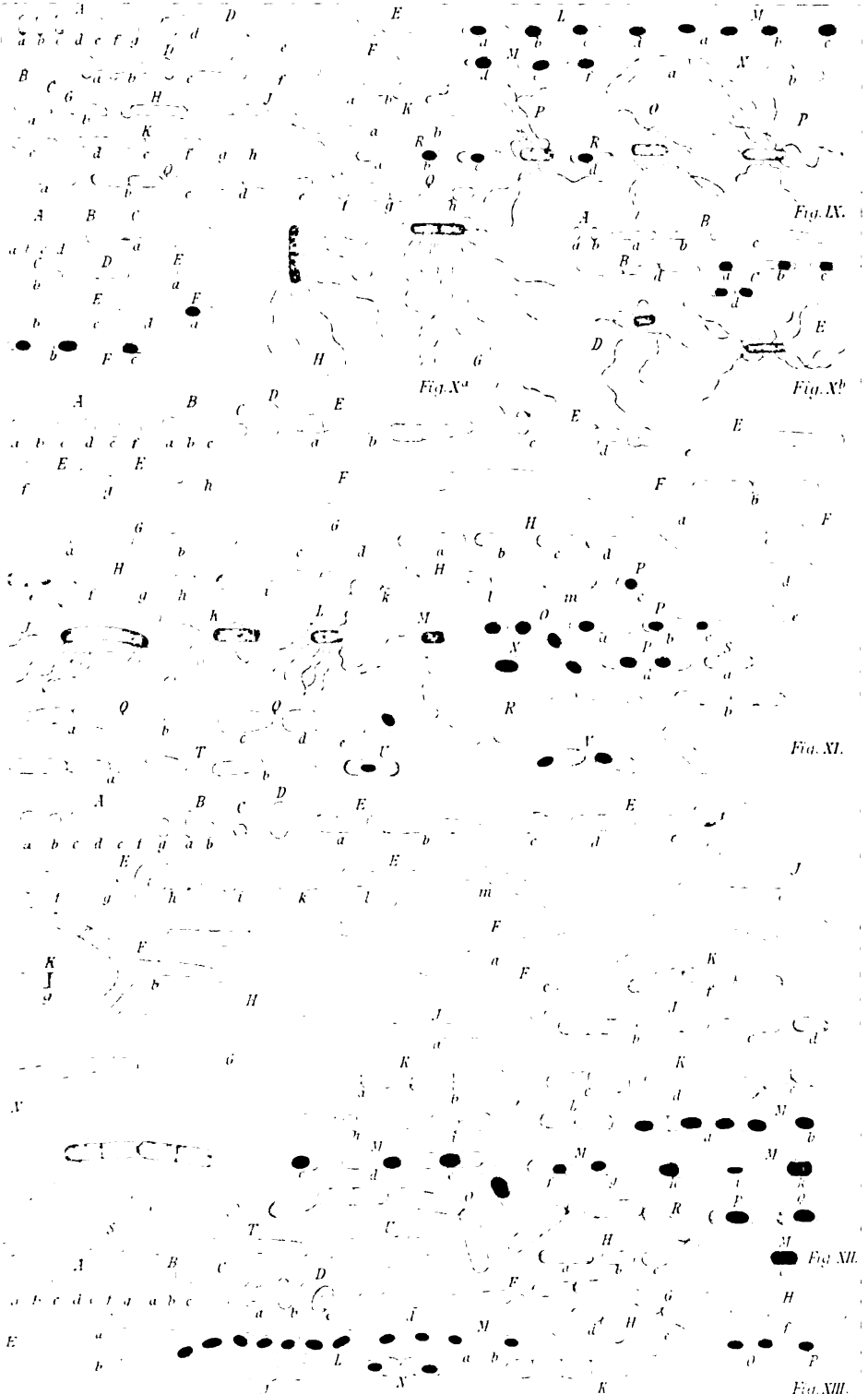


Fig. IV





M. J. J. J. J.

geißelung bekannt.“ Merkwürdigerweise reiht trotz letzterer Angaben *Migula* „*Bacillus mycoides*“ in seine Gattung „*Bacillus*“ ein. Zum Vergleich mit den Diagnosen von Flügge und Lehmann und Neumann will ich in folgendem noch hinzufügen, was *Migula* Neues über *Bacillus mycoides* angegeben hat. „Ziemlich dicke, in der Regel zu langen Fäden verbundene Bacillen, an denen bei der Färbung die Gliederung in einzelne Stäbchen sehr deutlich hervortritt. In der Regel verflechten sie sich zu dichteren Fadensträngen, der Durchmesser der einzelnen Stäbchen beträgt circa $0,94 \mu$, die Länge $1,6-2,4 \mu$. Die Fäden zeigen eine geringe Eigenbewegung. Auf Agar-Agar und Kartoffel tritt sehr bald Sporenbildung ein und zwar fast in allen hintereinander liegenden Gliedern eines Stäbchens. Mit der zunehmenden Reife der Sporen baucht sich das Glied in der Mitte, wo die Spore erscheint, etwas aus; die reife Spore ist elliptisch bis länglich und erreicht eine Länge von $1,3-1,48 \mu$ bei einer Dicke von $0,74-0,9 \mu$. In Bouillon bildet sich auf der Oberfläche eine Haut und auch an der Glaswand setzen sich zahlreiche Flockchen ab, die sich allmählich zu Boden senken, während die Flüssigkeit ganz klar bleibt. Schließlich findet sich der Boden mit verschieden großen zusammenhängenden, weißen Hautetücken bedeckt, über denen eine ganz klare Flüssigkeit steht.“ (Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Monilia sitophila (Mont.) Sacc., ein technischer Pilz Javas.

Von F. A. F. C. Went.

Mit einer Tafel.

(Schluß.)

Daneben fragt sich, welche Quantitäten der verschiedenen Substanzen man vergleichen soll. Muß man gleiche Gewichtsmengen oder molekulare Mengen oder isotonische Lösungen vergleichen? Das läßt sich auch nur durch den Versuch entscheiden; für jede Substanz müßte wieder ermittelt werden, welche Menge die Maximalernte giebt, und diese Mengen müßten verglichen werden. Unter anderen Fehlerquellen mache ich noch aufmerksam auf den Feuchtigkeitsgehalt der Luft; dieser wird in den Kolben nicht vollkommen gleich sein infolge der verschiedenen Dichtigkeit der Baumwollpfropfen, besonders wenn die Flüssigkeiten nicht isotonisch sind, und welchen Einfluß das auf die Conidienbildung hat, wurde oben dargethan.

Wie gesagt, war die Erforschung der Ernährungsbedingungen des Pilzes nicht Hauptzweck der Untersuchung; es wurden nur nebenbei einige Zahlen gesammelt. Diese Zahlen müssen also nach den mitgeteilten Betrachtungen mit einigem Vorbehalt aufgenommen werden. Sie werden uns aber jedenfalls insoweit ein Bild der Ernährungsbedingungen geben, daß sich herausstellen kann, welche Substanzen zu den guten, welche zu den mittleren, welche zu den schlechten Nährstoffen gerechnet werden müssen.

Erstens wurden einige Substanzen geprüft, welche sowohl Kohlenstoff als Stickstoff enthalten; dieselben ergaben folgende Erntemengen (wie gesagt, ist die Ernte stets in Milligramm Trockengewicht angegeben) in der in Klammern angegebenen Anzahl Tage in 100 ccm Flüssigkeit:

5	Proz. Pepton (Witte)	124	(20)
2,5	„ Casein	26	(13)
5	„ Asparagin	19	(20)
5	„ Glykokoll	19	(20)

Wie man sieht, ist Pepton ein ausgezeichnete Nährstoff, während die anderen Substanzen nur einen geringen Nährwert haben.

Zweitens wurden verschiedene Kohlenstoffverbindungen auf ihren Nährwert verglichen, wenn daneben 0,5 Proz. NH_4NO_3 als Stickstoffquelle gegeben wurden. Die in verschiedenen Versuchen erhaltenen Zahlen finden sich in untenstehender Tabelle zusammengestellt; überall ist die Trockenernte in Milligramm angegeben.

100 ccm Flüssigkeit enthielten folgende C-Verbindungen		Dauer des Versuchs		
		9 Tage	12—14 Tage	19—21 Tage
1	g Xylose	112	mg	
1	„ d-Mannose	50	„	
5	„ Raffinose		293	mg
5	„ „		205	„
5	„ Maltose		143	„
2	„ Glykogen		36	„
2	„ Trehalose		24	„
5	„ Galaktose		12	„
5	„ Fruktose (pur.)		11	„
2,5	„ l-Arabinose		6	„
0,5	„ Inulin		1	„
5	„ Fruktose (tech.)			190
5	„ Stärke			122
5	„ Dextrin			61
5	„ Laktose			52
5	„ Mannit			22
5	„ Saccharose			21
5	„ Isodulcit			15
5	„ Arabin			14
5	„ Kaliumtartrat			14
5	„ Erythrit			10
5	„ Dulcit			9
5	„ Aethylacetat			8,5
5	„ Kaliumcitrat			1
5	„ Natr.-Succinat			1

Wie man sieht, gehören also Raffinose, Maltose, Stärke und Xylose zu den sehr guten Kohlenstoffquellen, während die übrigen sich in solche von mittlerem, niederem und gar keinem Nährwert scheiden lassen. Auffallend ist, daß die technische Fruktose einen sehr großen Nährwert besitzt; während die reine Substanz zu den schlechten Nährstoffen gerechnet werden muß. Ähnliches sah ich übrigens z. B. auch beim Milchzucker; die oben angegebene Zahl (52 mg in 20 Tagen) hat Bezug auf Laktose pur. von Merck. Als ich denselben einige Male gelöst und mit Alkohol niedergeschlagen hatte, ging die Ernte herunter bis auf 7 mg in 14 Tagen.

Weiter wurde der Nährwert verschiedener Stickstoffverbindungen geprüft, wenn 5 Proz. Glukose als Kohlenstoffnahrung gegeben wurden. Es wurden je 25 ccm Flüssigkeit gebraucht, worin 0,5 Proz. der folgenden Substanzen, welche die nachstehenden Erntemengen ergaben in 21 Tagen:

Pepton	139	Ammoniumsulfat	28
Tyrosin	125	Alanin	26
Asparaginsäure	44	Glykokoll	25
Asparagin	43	Harnstoff	20
Kaliumnitrat	35	Hippursäures Natron	17
Kaliumnitrit	33	Kreatin	7
Leucin	30	Coffein	4

Außer Pepton, was aber schon ohne weitere Kohlenstoffzugabe ein ausgezeichneter Nährstoff ist, stellt sich also das Tyrosin als eine der besten Stickstoffquellen heraus, wenn Glukose die Kohlenstoffnahrung bildet (bei alleiniger Ernährung mit Tyrosin entwickelt sich der Pilz nur spärlich). Die übrigen Substanzen der obigen Liste ergaben nur eine mittlere Entwicklung des Myceliums, nur die zuletzt genannten können kaum als Stickstoffquellen in Betracht kommen.

Würde das Verhältnis zwischen diesen stickstoffhaltigen Substanzen unverändert bleiben, wenn nicht Glukose, sondern irgend ein anderer kohlenstoffhaltiger Nährstoff vorhanden gewesen wäre? Zur Beantwortung dieser Frage wurden die folgenden 7 Versuche gemacht. In je 5 Kölbchen wurden 25 ccm von 5-proz. Glukose, Maltose, Laktose, Saccharose und Glycerinlösungen gebracht, während ein sechster 25 ccm Flüssigkeit ohne weitere Kohlenstoffnahrung erhielt. 7 Sätze von solchen Nährflüssigkeiten wurden hergestellt und jeder Satz erhielt nun außerdem eine andere Stickstoffquelle, jedesmal $\frac{2}{3}$ Proz. Nach der Sterilisierung wurde mit *Monilia* geimpft und nach einer bestimmten Anzahl von Tagen wurde die Trockensubstanz der Ernte bestimmt. In der folgenden Tabelle findet man das Resultat zusammengestellt:

Kohlenstoffquelle	Stickstoffquelle						
	Kreatin	Tyrosin	Asparaginsäure	Hippursäure	Glykokoll	Alanin	Leucin
5% Maltose	27	185	24	11	50	26	36
5 „ Laktose	13	120	13	6	31	17	10
5 „ Sacchar.	11	131	76	3	18	33	27
5 „ Glukose	17	147	26	9,5	32	16	36
5 „ Glycer.	7,5	110	27	1	18	92	12
Nichts	3,5	16	11	0	11	0,5	0,5
Dauer des Versuchs	33 Tage	33 Tage	30 Tage	30 Tage	30 Tage	24 Tage	24 Tage

Man sieht, daß auf jeden Fall das Tyrosin den weiten Vorsprung behält, nur beim Glycerin ist Alanin dem ersteren gleichwertig. Die Hippursäure kommt überall an letzter Stelle, sonst aber ergeben sich ziemliche Verschiedenheiten. Am besten über sieht man das, wenn man jede vertikale Reihe für sich betrachtet; dann ergibt sich, daß von den 5 untersuchten kohlenstoffhaltigen Substanzen Maltose den höchsten Nährwert besitzt, wenn der Pilz als Stickstoffquelle die Verfügung hat über Tyrosin, Glykokoll oder Kreatin, daß daneben die Glukose in Betracht kommt, wenn Leucin oder Hippursäure vorhanden sind. Ganz anders verhält es sich

bei der Asparaginsäure, wo Saccharose bei weitem der beste Nährstoff ist, und bei dem Alanin, wo der Nährwert des Glycerins noch überwiegender ist gegenüber den anderen Kohlenstoffquellen.

Zur Erklärung dieser Thatsachen lassen sich wohl nur Vermutungen aussprechen. Man wird aber unwillkürlich gedrängt zu der Annahme, daß man einen Zusammenhang suchen muß mit der Eiweißbildung. Dann würde der Pilz also leichter Eiweißstoffe bilden können aus Maltose und Tyrosin oder Glykokoll, als wie aus den anderen kohlenstoffhaltigen Substanzen mit diesen Stickstoffverbindungen, und ebenfalls würde die Eiweißbildung aus Asparaginsäure am leichtesten bewerkstelligt werden mit der Saccharose, aus Alanin dagegen mit dem Glycerin. Solange dergleichen Verhältnisse bei anderen Pflanzen noch nicht näher studiert worden sind, wird es noch nicht möglich sein, die allgemeinen Folgerungen hieraus zu ziehen, da ja vielleicht bei *Monilia sitophila* ganz spezielle Bedingungen für die Eiweißbildung gegeben sein müssen. Ich halte indessen diese Erklärung darum nicht für ganz unmöglich, weil ja vor kurzer Zeit ähnliche Verhältnisse von Hansteen gefunden wurden bei *Lemna*¹⁾; diese kann z. B. Eiweiß bilden aus Asparagin und Glukose, aus Glykokoll und Saccharose, aber nicht aus Asparagin und Saccharose oder aus Glykokoll und Glukose.

Um den Einfluß der Konzentration des Nährstoffes zu studieren, wurden einige Reihen von Kulturen gemacht in einer Nährlösung, welche als Stickstoffquelle 0,5 Proz. NH_4NO_3 erhielt; diese wurde in Kolben verteilt, worin je 100 ccm gegeben wurden und dazu verschiedene Quantitäten Maltose, Raffinose oder Dextrin zugefügt. Folgende Ernten wurden erhalten:

Prozentgehalt der Kohlstoffquelle	Maltose	Raffinose	Dextrin
0,04	18	—	7
0,08	30	—	7
0,16	31	19	6
0,31	54	31	10
0,62	59	57	20
1,25	130	—	25
2,5	103	141	56
5	143	205	47
10	97	257	119
20	92	254	120
Dauer des Versuches	12 Tage	12 Tage	32 Tage

Wie zu erwarten war, steigt die Ernte mit der Konzentration der Nährsubstanz, aber bei der Maltose nur bis zu einer gewissen Grenze, wird diese überschritten, dann erhält man wieder kleinere Ernten. Bei der Raffinose und dem Dextrin war diese Grenze in der 20-proz. Lösung wohl eben erreicht.

Wirkt hier die höhere Konzentration schädlich auf die Entwicklung des Pilzes ein durch ihren höheren osmotischen Druck? Die Versuche Eschenhagen's machten die Annahme zwar nicht sehr wahrscheinlich, indessen wurde versucht, auf diese Frage

1) Hansteen, B., Ueber Eiweißsynthese in grünen Phanerogamen. (Jahrbücher f. wiss. Botanik. Bd. XXXIII. 1899. p. 417.)

eine Antwort zu bekommen. Es wurden nämlich Kulturflüssigkeiten hergestellt in der oben angegebenen Weise mit verschiedenem Gehalt an Zucker, welche aber außerdem noch einen Zusatz von Glycerin erhielten, und zwar so viel, daß alle Lösungen isotonisch wurden mit derjenigen, welche den höchsten Zuckergehalt besaß. Der Zweck der Versuche war zwar ein ganz anderer; es sollte nämlich in diesem Falle die Menge eines gebildeten Enzyms gemessen werden, und dabei war eben Zusatz von Glycerin erwünscht¹⁾. Indessen ergaben dieselben ein etwas unerwartetes Resultat. Glycerin ist, wie schon hervorgehoben wurde, eine verhältnismäßig schlechte Kohlenstoffquelle, wenn eine anorganische stickstoffhaltige Substanz vorhanden ist. Nun stellte sich aber heraus, daß bei Zusatz von Glycerin in vielen Fällen die Ernte sich stark steigerte. Das war weniger der Fall bei der Maltosenährflüssigkeit, aber in enormem Maße bei der Raffinose, wie die untenstehenden Zahlen lehren werden:

Prozent Maltose	Prozent Glycerin		Ernte I	Ernte II
	I	II		
0,02	2,5	—	11	—
0,04	2,5	5,0	11	32
0,08	2,5	5,0	12	38
0,16	2,45	5,0	12	40
0,31	2,4	4,9	16	37
0,62	2,3	4,8	19	46
1,25	2,2	4,7	14	79
2,5	1,9	4,4	45	71
5	1,25	3,75	28	110
10	0	2,5	26	148
20	—	0	—	174
Dauer des Versuches			9 Tage	15 Tage

Prozent Raffinose	Prozent Glycerin		Ernte I	Ernte II
	I	II		
0	3,27	—	25	26
0	3,27	—	21	28
0,16	3,24	—	141	155
0,31	3,22	—	116	171
0,62	3,16	—	208	122
1,25	3,06	—	211	197
2,5	2,86	—	230	172
5	2,46	—	257	249
10	1,63	—	342	270
20	0	—	528	230
Dauer des Versuches			13 Tage	22 Tage

3,27 Proz. Glycerin gab also eine Ernte von im Durchschnitt 25 mg, ein Zusatz von 0,16 Proz. Raffinose steigerte diese auf 140—150 mg, während wir vorher sahen, daß 0,16 Proz. Raffinose ohne Glycerinzusatz nur eine Ernte von 19 mg ergab.

Höhere Glycerindosen ohne jede weitere Zusätze geben dagegen keine größeren Pilzernten. So wurden in einem Versuche in 16 Tagen folgende Ernten erhalten, als die Nährlösung enthielt 0,5 Proz. NH_4NO_3 und

1) Weil Glycerin die Wirkung des Enzyms nicht hemmte, Salze aber bekanntlich oft stark beschleunigend oder hemmend darauf einwirken.

Prozent Glycerin	Ernte
3,5	15 mg
7	15 "
14	5 "

In 26-proz. Glycerin fand noch Keimung statt, aber fast kein Wachstum, in einer 58-proz. Lösung unterblieb jede Keimung.

Diese Ergebnisse könnten erklärt werden, wenn man annimmt, daß Glycerin zwar eine nicht sehr geeignete Substanz ist zur Produktion der Zellschubstanz des Pilzes, aber ein gutes Atmungsmaterial liefert; wird dasselbe einer sehr verdünnten Raffinoselösung zugesetzt, dann braucht letztere nicht veratmet zu werden, und es kann daher mehr Pilzmycelium gebildet werden. Weitere Versuche werden entscheiden müssen, ob diese Annahme richtig ist¹⁾; jedenfalls habe ich noch in einer Reihe von Fällen etwas Glycerin zu einer Nährflüssigkeit zugesetzt, um auszuprobieren, ob dadurch die Ernte erheblich gehoben wird. Das war thatsächlich oft der Fall. Wenn man z. B. eine Nährflüssigkeit benutzt, welche als Kohlenstoffquelle nur Arachis- oder Olivenöl enthält, entwickelt sich ein äußerst spärliches Mycelium; Zusatz von 2,5 Proz. Glycerin giebt Veranlassung zur Bildung einer dicken Pilzdecke mit starker Conidientwicklung. Untenstehende Zahlen — welche man vergleichen wolle mit den früher gegebenen für dieselben Substanzen ohne Glycerinzusatz — mögen das Gesagte noch näher illustrieren. In 17 Kolben wurden je 100 ccm einer Flüssigkeit gebracht, welche 0,5 Proz. NH_4NO_3 und 1,3 Proz. Glycerin enthielt und außerdem die angegebenen Mengen anderer Substanzen; damit wurden in 14 Tagen folgende Erntemengen erhalten:

Nährsubstanz	Ernte	Nährsubstanz	Ernte
2,5 Proz. Isodulcit	61	2,7 Proz. Mannit	20
2,6 „ d-Glukose	37	2,6 „ d-Fruktose	20
0,5 „ Sorbit	32	1,8 „ Erythrit	18
5,3 „ Laktose	30	1,1 „ l-Arabinose	18
1,9 „ Asparagin	29	0,5 „ Inulin	16
0,7 „ Kaliumacetat	28	1,7 „ Kaliumtartrat	14
0,7 „ Aethylalkohol	22	5 „ Saccharose	11
1,3 „ Glycerin	22	1,3 „ Aethylacetat	6
1,1 „ Glykokoll	21		

Nicht überall also eine Erntesteigerung, aber in vielen Fällen ist diese sehr auffallend (z. B. beim Isodulcit).

Geprüft wurde weiter, ob eine saure oder alkalische Reaktion des Nährbodens Einfluß hat auf die Entwicklung des Pilzes. Zu einer Nährlösung, welche 5 Proz. Traubenzucker (techn.) und 0,5 Proz. KNO_3 enthielt und welche in 10 Kolben verteilt war zu je 100 ccm, wurden verschiedene Mengen $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure und $\frac{1}{10}$ Normalkalilauge zugesetzt. Dabei stellte sich heraus, daß Zusatz von 0,5, 1 und 5 ccm Schwefelsäure die Entwicklung des Pilzes nicht verhinderten, daß dieses aber wohl der Fall war, als 10 oder 25 ccm dieser Säure zugegeben wurden. Dagegen wurde

1) Man vergleiche hierbei übrigens auch die Betrachtungen Pfeffer's in „Elektion organischer Nährstoffe“. (Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. XXVIII. 1895. p. 205.)

von der Kalilauge, in Mengen von 0,5, 1, 5, 10 und 25 ccm zugesetzt, kein schädlicher Einfluß auf das Wachstum des Pilzes bemerkt; nur bei der höchsten Zugabe schien anfangs eine etwas langsamere Entwicklung stattzufinden. Die Reaktion des Nährbodens verändert sich dabei nicht, was man leicht sehen kann, wenn man demselben vorher etwas Lackmus zugesetzt hat, wobei übrigens mit Vorteil ein durch Zufügung von 2 Proz. Agar-Agar fest gemachtes Nährsubstrat benutzt wird. Nur wenn Fette vorhanden sind, werden diese gespalten, so daß daher die Nährflüssigkeit eine saure Reaktion erhält.

Der Pilz kann anaërobiontisch leben; wenn man Röhrcchen mit Nährgelatine oder Nähragar impft mit *Monilia sitophila* und dieselben in weite Buchner'sche Röhren stellt mit Pyrogallussäure und Kalilauge, so findet ein ganz normales Wachstum statt. Dasselbe Resultat erhielt ich, als ich einige Kulturen (teilweise in Reagenzröhren, teilweise in Kolben und Glasdosen) unter einer Glasglocke hielt, wo die Luft durch Wasserstoff verdrängt wurde, welches Gas von Zeit zu Zeit erneuert wurde. Das ausströmende Wasserstoffgas enthielt Kohlensäure. In beiden Fällen wird man wohl nicht auf absolute Abwesenheit des freien Sauerstoffes schließen dürfen, wenigstens zu Anfang des Versuches, da derselbe nur langsam durch Diffusion aus dem Innern der Gefäße entweichen wird. Macht man dagegen Kulturen in Kolben, wo man den Wasserstoffstrom über die Kulturflüssigkeit streichen läßt, dann erhält man ein sehr spärliches Mycelium. Es hat also den Anschein, als wenn die Entwicklung des Pilzes desto geringer ist, je besser man den Sauerstoff im gasförmigen Zustand von den Kulturen ausschließt.

In diesen anaërobiontischen Kulturen bildet der Pilz Alkohol und Ester, welche indessen ebenfalls in Luftkulturen auftreten, und zwar besonders bei der Ernährung mit verschiedenen Kohlehydraten. Die Esterbildung verrät sich leicht durch den angenehmen Estergeruch der Kulturen, und dadurch konnte festgestellt werden, daß dieselbe auch stattfindet bei der Ernährung mit Eiweiß als alleinige organische Substanz. Es wurde versucht, die Ester zu erhalten durch Destillation größerer Mengen von Reinkulturen; hierbei konnte aus der Form der Kondensation der Tropfen geschlossen werden auf Anwesenheit irgend einer alkoholähnlichen Substanz. Beim Erwärmen des Destillates mit Jod und Kalilauge wurde Jodoform erhalten. Als das Destillat einer nochmaligen fraktionierten Destillation unterworfen wurde und die jetzt erhaltenen Destillate mit Benzoylchlorid und Natronlauge geschüttelt wurden, bekam ich größtenteils ein Produkt, welches den Geruch des benzoësauren Aethylesters besaß, während das zuerst überdestillierende ebenso wie die letzten Destillate jedenfalls ganz andere benzoësauren Verbindungen lieferten. Es kann also wohl geschlossen werden, daß größtenteils Aethylalkohol gebildet wird. Die übrigen Ester eventuell Alkohole werden in so geringen Mengen erhalten, daß eine Analyse nicht möglich ist, so lange man nicht Riesenkulturen des Pilzes macht. Daß auch die gebildete Alkohol-

menge nicht sehr ansehnlich ist, geht aus folgendem Versuch hervor: Eine große Kultur von *Monilia sitophila* wurde auf 500 g Reis (mit 1,6 l Wasser) gemacht. Nach 3 Wochen wurde 100 ccm von der Flüssigkeit abdestilliert und das spezifische Gewicht des Destillates bestimmt; wenn die Annahme gemacht wurde, daß dieses Destillat nur aus mit Wasser verdünntem Aethylalkohol bestand, berechnete sich die Menge des gebildeten Alkohols auf 15 g. Es lag wenig Veranlassung vor, die Sache weiter zu verfolgen, die Mühe würde sich jedenfalls kaum lohnen.

Es scheint mir nicht unwahrscheinlich, daß beim technischen Gebrauch des Pilzes die Esterbildung eine gewisse Rolle spielt. Da ich die Ontjomkuchen nicht an Ort und Stelle untersucht habe, kann ich übrigens nur Vermutungen aussprechen über die Größe der Veränderungen, welche diese durch den Pilz erleiden. An anderer Stelle werde ich auseinandersetzen, welche Zersetzungen *Monilia sitophila* bewirkt. Davon kommen bei der technischen Verwendung vielleicht in Betracht: 1) die Spaltung der Fette, *Arachis*-Oel z. B. wird gespalten in freie Fettsäuren und Glycerin; 2) die Peptonisierung und weitere Zersetzung der Eiweißstoffe; 3) die Verzuckerung der Stärke; zwar enthalten die *Arachis*-Samen nicht viel Stärke, aber doch genügend, um einen sehr deutlich Fehling'sche Lösung reduzierenden Extrakt zu liefern, wenn man den Pilz darauf zieht; 4) die Lösung der Cellulose. Vielleicht ist diese letztere Einwirkung wohl Hauptsache bei der technischen Verwendung, denn sie ist Ursache, daß die Pilzfäden sich, wie man unter dem Mikroskop leicht konstatieren kann, in die Zellwände einbohren und dieselben derart lockern, daß die Zellen bei leisem Druck ganz frei voneinander werden, wodurch die Verdaulichkeit der Ontjomkuchen wahrscheinlich wohl größer ist als diejenige nicht verpilzter *Arachis*-Samen.

Utrecht, März 1901.

Tafelerklärung.

Alle Figuren haben Bezug auf *Monilia sitophila*; dieselben wurden mit der Camera lucida gezeichnet.

Fig. 1. Baumförmig verästelter Conidienträger mit Conidien. Vergr. 220.

Fig. 2. Verzweigte Conidienkette mit Conidien von verschiedener Größe und Form. Vergr. 790.

Fig. 3. Conidien, durch linsenförmige Zellwände miteinander verbunden. Vergr. 830.

Fig. 4. Conidien, welche sich eben loslösen, noch durch ein Zwischenstück verbunden. Vergr. 3000.

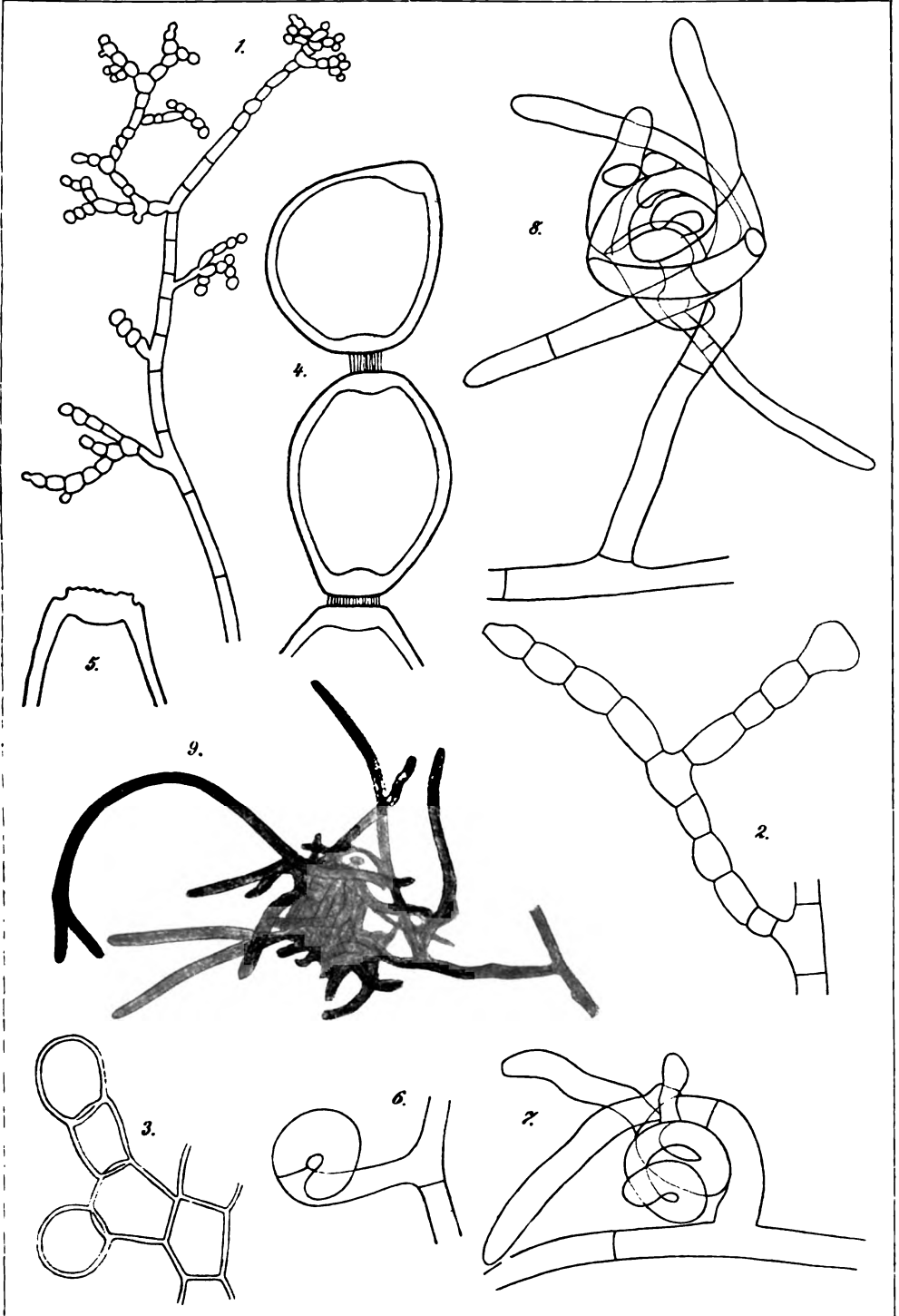
Fig. 5. Spitze einer eben losgelösten Conidie, welche ein gezähneltes Ansehen hat. Vergr. 3000.

Fig. 6. Hyphe, welche anfängt, sich schraubenförmig zu winden. Vergr. 830.

Fig. 7. Schraubenförmig gewundene Hyphe. Vergr. 830.

Fig. 8. Wie Fig. 7, aber es sind verschiedene Hyphenäste aus der Schraube hervorgesprossen. Vergr. 830.

Fig. 9. Weiteres Stadium der Figuren 6—8; es hat sich ein Hyphenknäuel gebildet. Vergr. 220.



Nachdruck verboten.

Bemerkung zu Dr. W. Holtz' Arbeit über Baumflüsse.

Von F. Ludwig, Greiz.

In seinem „Beitrag zur Kenntnis der Baumflüsse und einige ihrer Bewohner“ (Centralblatt für Bakteriologie etc. II. Abt. Bd. VII. 1901. No. 4—10) hat Herr Dr. Wilhelm Holtz (Freiburg i. Br.) die Ergebnisse, zu welchen ich über die durch die *Endomyces-Leuconostoc* und die *Torula*-Genossenschaft (vergl. l. c. Bd. II. 1896. No. 10/11) verursachten pathologischen Erscheinungen und die Pilze dieser Genossenschaften gekommen bin, in abfälliger Weise besprochen auf Grund seiner Untersuchung von Baumflüssen, in denen, wie das häufig vorkommt, alle möglichen Organismen sich fanden, von denen er aber annimmt, daß sie mit den oben genannten ganz typisch und charakteristisch verlaufenden Erscheinungen übereinstimmen. Ich begnüge mich hier damit, auf die Arbeit einfach hinzuweisen mit der Bemerkung, daß der Verf. derselben — wie er l. c. No. 5/6. p. 184 selbst sagt — in den Baumflüssen, die er untersuchte, weder den *Leuconostoc Lagerheimii*, noch die Eichenhefe (*Saccharomyces Ludwigii* Hansen), noch den *Endomyces Magnusii*, noch *Torula monilioides*, noch *Micrococcus dendroporthos* gefunden hat, gleichwohl sich aber berechtigt fühlt, Ergebnisse, zu denen Forscher wie Brefeld, Beijerinck, v. Lagerheim, Dietel, v. Thümen, v. Schrenk, Nypels u. A. in Uebereinstimmung mit mir über die genannten Pilze und die durch sie verursachten Erscheinungen kamen, in Frage zu stellen — weil er sie nicht selber fand.

Mich um Vergleichsmaterial zu ersuchen, hielt er nicht für nötig.

Greiz, 2. Juni 1901.

Nachdruck verboten.

Zum Fehlschlagen der Sporangien bei *Mucor Rouxii*.

Von C. Wehmer.

In einer Mitteilung über *Mucor Rouxii* in No. 9/10 dieses Bandes glaubt T. Chrzazcz die Deutung meiner Beobachtung hinsichtlich der Sporangienträger dieses Pilzes anfechten zu dürfen, indem derselbe meint, „daß man es hier weder mit einem Fehlschlagen von Sporangien noch mit einer pathologischen Erscheinung zu thun hat, sondern daß in allen diesen Fällen gewöhnliche Gemmenbildung vorgekommen ist“.

Das ist natürlich ein Irrtum, die Betrachtung meiner Ab-

bildungen läßt über das Thatsächliche so wenig im Zweifel, daß ich den Punkt nicht näher auszuführen brauche. Sieht man sich nach den Beweisen für die Behauptung von Chr. um, so findet man da nur die kurze Angabe, daß derselbe solche fehlgeschlagene Sporangien aus verschiedenen Nährböden isolierte und zur Keimung brachte. Chr. hat also offenbar nur gewöhnliche Gemmen vor sich gehabt — Sporangienträger entwickeln sich im Luftraum — deren Keimung nichts Auffälliges ist. Hätte Chr. eine mikroskopisch genaue Zeichnung des von ihm Gesehenen gegeben, so würde das Mißverständnis wohl ohne weiteres klarliegen und auch dem der Sache Fernerstehenden die Möglichkeit einer Kritik der Chr. z. z. Behauptung ermöglicht sein.

Referate.

Jahn, E., Myxomycetenstudien. 1. *Dictydium umbilicatum* Schrader. (Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. Bd. XIX. 1901. Heft 2. p. 97—115. Tafel V.)

Der Verf. schildert die Entwicklung des Plasmodiums zum Sporangium, über die bisher nur ganz vereinzelte und sehr unvollständige Angaben existieren. Er schickt eine kurze Schilderung des fertigen Sporangiums und einiger bemerkenswerter Abarten voraus, die er in der Nähe Berlins beobachten konnte. Bei einer dort sehr ständig auftretenden Varietät ist das Sporenkörnchen nicht hakenförmig aufgehängt, wie gewöhnlich, sondern der Stiel geht unmittelbar in das Körnchen über; ferner bildet das Maschenwerk des Sporangiums bei dieser Abart — der Verf. nennt sie *D. anomalum* — im oberen Teil ein stark an *Cribraria* erinnerndes Netz.

Das Plasmodium der *Cribrariaceen*, zu denen *D.* gehört, bleibt gewöhnlich bis unmittelbar vor der Fruktifikation im Holz. Es erscheint an der Oberfläche in kleinen schwarzblauen Tröpfchen, die sich unten unregelmäßig einschnüren. Die Plasmakugel hängt dann seitlich über. Der Stiel wird in der Weise hergestellt, daß die Membran, die das Plasma überzieht, sich am Grunde zusammenfaltet; an der gegenüberliegenden Spitze erweitert sie sich dementsprechend beständig und ist dort daher sehr zart.

Der Stiel zeigt infolge dieser Entstehungsweise auf einem Querschnitt starke Fältelungen. Zwischen diesen befinden sich regelmäßige Anhäufungen eigentümlicher Körner, die in der Längsrichtung Linien am Stiel bilden und sich auch auf die Plasmakugel fortsetzen an den Stellen, wo später die Spangen entstehen.

Diese Körnchen, die der Verf. *Dictydinkörner* nennt, sind bereits im Plasmodium vorhanden. Ihre Größe schwankt von unmeßbarer Kleinheit bis 3μ . Wie sie entstehen, konnte nicht festgestellt werden. Sie besitzen die Fähigkeit, Farbstoffe, namentlich Kernfarbstoffe, mit Begierde zu speichern, so daß es nur

schwer gelingt, gleichzeitig die Kerne nachzuweisen. Was die chemische Beschaffenheit der Dictyidinkörner betrifft, so ist es sicher, daß es sich bei ihnen nicht um Eiweißverbindungen handelt, da sie mit dem Millon'schen Reagens und mit Jod keine Eiweißreaktion gaben. Der Verf. hält es nicht für ausgeschlossen, daß die Substanz der Körnchen mit der Cellulose verwandt ist, trotzdem die charakteristischen Reaktionen fehlen und die Körner sowohl gegen konzentrierte Kalilauge als auch gegen Schwefelsäure sehr widerstandsfähig sind. Auch die Membran zeigt keine Cellulosereaktion.

Nicht alle Dictyidinkörner werden für die Leistenbildung verbraucht, die kleinsten werden in wechselnder Menge den Sporen einverleibt; ob sie bei der Keimung vom Schwärmer mitgenommen werden, konnte nicht festgestellt werden, da die Sporen nicht zum Keimen gebracht werden konnten.

Der Verf. hält die Dictyidinkörner für Nebenprodukte des Stoffwechsels, die allerdings eine wichtige Verwendung beim Aufbau des Sporangiums finden. Er vergleicht sie mit Inhaltskörpern gewisser Rhizopoden und den Cellulinkörnern der Saprolegnien.

Bei der Austrocknung der Sporangien dienen die Spangen als einfacher Mechanismus zur Ausstreuung der Sporen. Das verdunstende Wasser zieht nämlich vermöge der Kohäsionskraft die Spangen am Nabel nach innen. Nach der Verdunstung des Wassers schnellen indes die Spangen nicht zurück, sondern bleiben verbogen.

Die Bedeutung der Körnchenleisten im Stiel ist nach dem Verf. eine doppelte: Erstens dienen sie zur Verstärkung der Biegefestigkeit; sie fehlen daher auch an der Spitze, wo der Stiel unter der Last des Sporangiums umgebogen ist. Ferner aber dienen die Leisten zur Regelung der Einfaltung. An der Aufhängungsstelle der Plasmakugel treten im Innern Knoten dichterem Plasmas auf, die nach den Körnchenstreifen Stränge entsenden. Zwischen diesen Strängen wird dann die Membran eingefaltet. Durch das Vorhandensein der Körnerspangen werden so Torsionen des Stengels vermieden, welche die Emporhebung des Körbchens in die Luft gefährden würden.

Aus den Untersuchungen geht hervor, daß die Annahme Zopf's, daß bei den Cribrariaceen zuerst ein Säulchen gebildet werde, an welchem das Plasma heraufkrieche, um sich oben zur Sporocyste umzuformen, auf Irrtum beruht.

Zum Schlusse weist der Verf., daß die Cribrariaceen sich durch eine ganze Reihe von Kennzeichen scharf von den übrigen Myxomyceten unterscheiden, so daß sie eine besondere Gruppe bilden, und daß dieser Unterschied deutlicher in der Systematik zum Ausdruck gebracht werden müßte, als dies bisher allgemein der Fall ist.

B. Leisering (Pankow-Berlin).

Kühn, Die Assimilation des freien Stickstoffes durch Bodenbakterien ohne Symbiose mit Leguminosen. (Fühling's landw. Ztg. 1901. Heft 1. p. 2.)

Verf. berichtet über das Ergebnis eines nunmehr über mehr

als 20 Jahre sich ausdehnenden statischen Versuches auf dem Versuchsfelde des landwirtschaftlichen Institutes der Universität Halle. Seit dem Jahre 1878 folgt auf bestimmten Parzellen der Einfelderwirtschaft immer Winterroggen auf Winterroggen. Bei dieser an sich wenig rationellen Fruchtfolge wurden nun andauernd, und sogar auf den ohne jegliche Stickstoffdüngung belassenen Parzellen, günstige Ernten erzielt. Der 5-jährige Durchschnitt der Ernten ergab nicht nur gegenüber der Gesamtdurchschnittsernte Deutschlands in den betreffenden Jahren, sondern auch im Vergleich zur ersten Ernte auf dem Versuchsfelde (1879) eine recht erhebliche Steigerung des Ertrages an Stroh und Spreu, sowie an Körnern. Dieses günstige Ergebnis kann, wie ein Vergleich mit den Erträgen der mit Stickstoff gedüngten Parzellen ergibt, nicht etwa auf einen von Anfang an vorhandenen Stickstoffvorrat zurückgeführt werden. Ebenso wenig kann es vollständig durch die mittels atmosphärischer Niederschläge der Ackerkrume zugeführten Stickstoffmengen bedingt sein. Es muß vielmehr eine Assimilation des elementaren Stickstoffes der Atmosphäre durch Bodenmikroorganismen stattgefunden haben, und zwar in den vorliegenden Fällen ohne Symbiose mit Leguminosen. Verf. betont die große Wichtigkeit dieser Thatsache, welche durch die von Krüger ausgeführte Reinkultur einer stickstoffassimilierenden Mikrobenart aus der Ackerkrume des erwähnten Versuchsfeldes eine weitere Stütze erhält.

Vogel (Posen).

Pospjelow, W., Die Parasiten der Hessenfliege in Rußland. (Illustr. Zeitschr. f. Entomol. Bd. V. 1900. p. 261—264. 6 Fig.)

Dem epidemischen Auftreten der Hessenfliege in Rußland vom Jahre 1897 stand eine solche Vermehrung ihrer Parasiten gegenüber, daß im folgenden Jahre die Saaten keinen merklichen Schaden erfuhren. Die betreffenden Hautflügler gehörten zu den Proctotrupiden und Chalcididen und wurden als *Polygnotus minutus* Lind., *Trichaeis remulus* Walk., *Merisus intermedius* Lind. und *Entedon epigomes* Walk. bestimmt. Die Larven der ersten Art sind „cyklopenförmig“ und leben zu 10—12 im Darmkanale der Hessenfliegenmade, deren Körper sie gegen das Verpuppen hin nach außen zu durchfressen, um sich in beulenförmigen Auftreibungen der Haut zu verpuppen. *Polygnotus minutus* überwintert im Cocon. Die Kennzeichen der angeführten Parasiten werden im übrigen beschrieben und durch vortreffliche Abbildungen erläutert.

Arnold Jacobi (Berlin).

Zimmermann, A., Over de Enchytraeiden en haar voorkomen in de koffiewortels. (Teysmannia. 1899. Deel 9. p. 182—186.)

Nachdem Ref. die über die Schädlichkeit der Enchytraeiden in der Litteratur vorliegenden Angaben kurz zusammengestellt hat, macht er einige Angaben über das Vorkommen derselben in kranken Kaffeewurzeln. Ob dieselben hier schädlich sind, konnte aber nicht entschieden werden. Zimmermann (Buitenzorg).

Zimmermann, A., Over eene schimmelepidemie der groene luis. (Teysmannia. 1899. Deel 9. p. 240—243.)

Verf. beschreibt einen Pilz, der das für den Kaffee sehr schädliche *Lecanium viride* in großen Mengen tötet. Die aus den getöteten Läusen hervortretenden Mycelfäden umgeben dieselben mit einem feinen weißen Hofe, der auch mit dem unbewaffneten Auge gut sichtbar ist. Ref. hat auch bereits Reinkulturen von diesem Pilze gemacht. Die mit denselben ausgeführten Infektionsversuche haben aber bisher wenig befriedigende Resultate geliefert.
Zimmermann (Buitenzorg).

Zimmermann, A., Over een nieuwen koffieboorder. (Teysmannia. 1899. Deel. 9. p. 43—44.)

Ref. beschreibt einen zu den Bostrychiden gehörigen Bohrer, der in jungen Zweigen von Hybriden von *Coffea arabica* und *C. liberica* angetroffen wurde. Die durch denselben befallenen Zweige starben schnell ab. A. Zimmermann (Buitenzorg).

Beh, L., Zuchtergebnisse mit *Aspidiotus perniciosus* Comst. (Jahrb. d. Hamburger wissensch. Anstalten. Bd. XVII. 1899. 3. Beiheft. 1 Abb.)

Aus dem an neuen biologischen Ergebnissen reichen Berichte sei folgendes mitgeteilt. Bedingungen zur erfolgreichen Zucht von Schildläusen auf amerikanischen Aepfeln sind gesunde, in der Entwicklung ziemlich weit vorgeschrittene Weibchen auf gesunden, sich bis zum Beginne der Fortpflanzungszeit frisch erhaltenden Aepfeln bei Einwirkung einer genügend hohen Temperatur. Der Geburt der Larven scheint bei den Muttertieren immer das Abwerfen des Schildes und die Abscheidung weißer, wolliger Wachsflocken an beiden Seiten des Hinterleibes voranzugehen. Der Zeitraum der Fortpflanzung erstreckt sich auf 7 Wochen und die Ansprüche der untersuchten Art an die nötige Temperatur schienen keine allzu hohen zu sein. Von den ausgeschlüpften Larven suchten die Mehrzahl die am besten geschützte Stelle des Apfels, im vorliegenden Falle nämlich die Stielgrube auf, während sich auf der freien seitlichen Fläche keine einzige auf die Dauer festsetzte. In der Entwicklungsperiode unterscheidet R. fünf Stadien. Im ersten ist die Larve citronengelb und ziemlich bewegungslustig, im zweiten (das schon nach Verlauf eines Tages eintreten kann) scheidet sie einen immer dichter werdenden Wachsfraum aus, der während des dritten Stadiums sich zum ersten oder weißen Larvenschild verfilzt; dieser läßt sich auffallenderweise leicht, schon bei der geringsten Berührung, ablösen. Indem der weiße Larvenschild durch Bildung konzentrischer schwarzer Ringe vom Rande her dunkler und schließlich abgestoßen wird, entsteht als viertes Stadium das des zweiten oder schwarzen Larvenschildes, der somit als völlige Neubildung zu betrachten ist. Die Bildung des endlichen gelben Schildes durch Anlegung hellerer Ringe leitet in den letzten, fünften Lebensabschnitt über. Der schwarze Schild scheint

übrigens merkwürdigerweise bei den Läusen japanischer Abkunft („*Asp. andromelas* und *albopunctatus* Cock.“) sich deutlicher zu erhalten, als bei amerikanischen San José-Schildläusen, wo er nur höchst selten sichtbar bleibt. Innerhalb dieser 5 Stadien lassen sich noch zwei Abschnitte im Leben der fest-sitzenden, beschildeten Larve unterscheiden: eins mit beweglichen Gliedmaßen und eins, bei dem deren Inhalt resorbiert ist, während ihre Chitinhülle noch erhalten bleibt. Jenes dauert nur wenige Tage, dieses umfaßt den weitaus größten Teil des Larvenlebens. — Seine an anderer Stelle gegebenen Mitteilungen über den Häutungsvorgang ergänzt R. dahin, daß das Aufplatzen der Haut am Bauche nur ganz vorn, kurz vor dem Schlundgerüste erfolgt, daß also die Laus auf eine noch unerklärliche Weise trotz fehlender Gliedmaßen es verstehen muß, durch einen engen Schlitz aus der Haut herauszuschlüpfen und diese über sich an den Rückenschild befestigen. — Bei den Männchen zeigte sich ein unüberwindlicher Trieb, aus der bedeckenden Glasglocke herauszukommen; ihre Geh- und Flugfähigkeit ist jedoch ziemlich beschränkt.

Arnold Jacobi (Berlin).

Reh, L., Ueber *Aspidiotus ostreaeformis* Curt. und *A. Pyri* Licht. (Zool. Anz. Bd. XXIII. 1900. p. 497—499.)

Die in Deutschland auf Obstbäumen gefundenen *Aspidiotus*-Arten sind nicht sämtlich, wie dies von Goethe, Frank und Krüger u. A. geschehen, mit *A. ostreaeformis* zu identifizieren, sondern gehören teilweise zu *A. Pyri* Licht., worauf sich herausstellt, daß die erstere Art im wesentlichen Nord-, die andere Süddeutschland bewohnt. In Mitteldeutschland kommen beide Arten zugleich, öfters sogar gemeinsam an einem Baume vor, wobei jedoch immer *A. Pyri* vorherrscht. Verf. giebt noch an, da *A. ostreaeformis* nahe verwandt mit *A. ancylus* sei, *A. Pyri* dagegen mit *A. perniciosus*.

Arnold Jacobi (Berlin).

Reh, L., Ueber Schildbildung und Häutung bei *Aspidiotus perniciosus* Comst. (Zool. Anz. Bd. XXIII. 1900. p. 502—504.)

R. berichtet die bisherigen Angaben über die Bildung des Dorsalschildes bei der San José-Schildlaus dahin, daß sich nacheinander 2 larvale Schilde bilden, ein weißer und ein schwarzer, wobei der zweite den älteren emporhebt, wie dies mit ihm selber wiederum durch den dritten, endgiltigen geschieht. Jene beiden bestehen nur aus Wachsfäden und werden immer bezw. meist abgeworfen, der dritte hingegen bildet sich unter Beteiligung der Larvenhaut und ist nicht regenerationsfähig. Bei den Häutungen platzt die Bauchhaut in ihrem Vorderteil quer auf und das Insekt verläßt seine Haut nach vorn unten.

Arnold Jacobi (Berlin).

Reh, L., Untersuchungen an amerikanischen Obst-schildläusen. (Jahrb. der Hamburg. wissensch. Anstalten. Bd. XVI. 1899. 2. Beiheft.)

Zur Erleichterung der makroskopischen Suche nach Schildläusen versuchte R., etwaige Verschiedenheiten im Sitze der einzelnen Arten auf der Frucht festzustellen; Ergebnisse von praktischer Bedeutung ergaben sich indessen nicht. Als allgemeine Regel mag wenigstens gelten, daß die Läuse immer wieder geschützte Stellen aufsuchen, also weniger auf den freien Seitenflächen der Früchte sitzen als in den vorhandenen Gruben, bei Steinfrüchten also nur in der Stielgrube. Auch deren Stiel wird aufgesucht, während an der freien Oberfläche nur *Aspidiotus perniciosus* vorkommt. Dasselbe thut diese Art allein bei den (meist getrockneten) Birnen, wo sonst die meisten Läuse in der Blüten- oder Kelchgrube sich aufhalten. Verf. stellt hiernach eine Statistik auf, welche das Vorkommen von *Aspidiotus ancylus*, *A. Forbesi*, *A. perniciosus*, *A. cameliae*, *Chionaspis furfurus* und *Mytilaspis pomorum* an den unterschiedlichen Gegenden des Fruchtkörpers in Prozenten darlegt. Die betreffenden Zahlen fördern das in biologischer Hinsicht sehr interessante Ergebnis zu Tage, daß die Schildläuse durchaus nicht so allgemein die Neigung zeigen, immer die vor Licht, Regen etc. geschützten Stellen aufzusuchen, wie bisher von den Autoren gelehrt wurde, vielmehr läßt sich mit ziemlich großer Wahrscheinlichkeit behaupten, daß sich die Verteilung der Schildläuse an der Frucht nach ihrer Empfindlichkeit regelt. So zeigte sich *A. Forbesi* recht empfindlich, weit weniger dagegen *A. perniciosus* und am widerstandsfähigsten *Mytilaspis pomorum* — Befunde, die dem Verhalten dieser Formen zu den verschiedenen Klimazonen Nordamerikas entsprechen.

Arnold Jacobi (Berlin).

Reh, L., Versuche über die Widerstandsfähigkeit von Diapsinen gegen äußere Einflüsse. (Biolog. Centralbl. Bd. XX. 1900. p. 741—751, 799—815.)

Verf. erörtert zunächst die Methoden, welche eine Entscheidung herbeiführen sollen, ob Schildläuse lebend oder tot sind; eine solche ist bei der fast völligen Unbeweglichkeit der Tiere oft sehr schwierig. Selten nur geben Bewegungen des Hinterleibes oder der Saugborsten einen Anhalt (auf verschiedenen Beobachtungen fußend, schließt Verf., daß die letzteren Organe eine eigene, freilich noch nachzuweisende, Muskulatur besitzen müssen); von mikrochemischen Reaktionen zeigte sich weder die physiologische Methylenblaufärbung noch das Rumbler'sche Gemisch von Eosin und Methylgrün zuverlässig. Dagegen führte einerseits die Beobachtung von Zuckungen der Schlundmuskulatur, andererseits das verschiedene Verhalten des Integuments und des Leibesinhaltes gegen Verwundungen in der Mehrzahl der Fälle zum Ziele. Alle, auch die wärmeren Klimaten angehörigen Läuse ertrugen eine Temperatur von -14° und tägliche Schwankungen derselben bis zu 13° , selbst wenn ihr Substrat dadurch zu Grunde ging. Andererseits widerstanden sie auch der Gerinnungswärme des Eiweißes dauernd und Stufen von 50 bis zu 55° , wenigstens einige Zeit. Gegen flüssige Mittel sind die Diapsinen sehr

geschützt durch ihren Schild, dessen chemische Zusammensetzung übrigens noch nicht untersucht ist. Formol und Alkohol von 50—90 Proz. waren z. B. ohne Wirkung, während Petroleum und das v. Schilling'sche „Halali“ eher zu brauchen waren. Auch Gase und Dämpfe, selbst Blausäure, eignen sich nur bei langer Dauer der Einwirkung. Dagegen ist Luftabschluß, der am einfachsten durch Ueberziehen mit Oel oder Fett zu erreichen ist, ein Mittel, das alle Läuse sicher tötet. — Demnach haben die Diaspinen durch ihren festen deckenden Schildring ungemein große Widerstandsfähigkeit gegen äußere Einflüsse, wie Kälte, Wärme, Fäulnis, flüssige und gasförmige Chemikalien, solange nur ihr Substrat nicht in einer für sie schädlichen Weise zerstört wird.

Arnold Jacobi (Berlin).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. ARTHUR WÜRZBURG,
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Heim, L., Mitteilungen aus dem hygienisch-bakteriologischen Institut. (Aus: Festschr. d. Univ. Erlangen i. Prinzreg. Luitpold.) gr. 8°. 22 p. Leipzig (A. Deichert Nachf.) 1901. 0,80 M.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Canon, Bemerkungen zu der Mitteilung von Dr. Hugo Marx: „Ueber Sporenbildung und Sporenfärbung“. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXIX. 1901. No. 21. p. 830—831.)

Herman, Nouveau dispositif pour la culture des anaérobies. (Bullet. de l'acad. roy. de méd. de Belgique. 1901. No. 4. p. 259—263.)

Kermorgant, A., Manière de conserver les moustiques à l'état vivant pour les expédier en Europe. (Annal. d'hyg. et de méd. colon. 1901. No. 2. p. 323—324.)

Linde, O., Das Messen mikroskopischer Objekte. (Aus: Apotheker-Ztg.) gr. 8°. 9 p. m. 3 Fig. Berlin (Selbstverl. d. deutsch. Apoth.-Ver.) 1901. 0,25 M.

Looss, A., Zur Sammel- und Konservierungstechnik von Helminthen. (Zool. Anz. 1901. No. 643. p. 302—304.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Ashmead, W. H., Three new parasitic hymenoptera from South Africa. (Canad. entomol. 1901. No. 5. p. 138—140.)

Barbet, E., La pasteurisation de l'alcool. (Bullet. de l'assoc. d. chimist.) (Journ. de la distillerie franç. 1901. No. 869, 870, 872, 874—876. p. 47—49, 60—61, 84—86, 108—110, 120—122, 130—133.)

Berlese, A., Descrizione e figura della Trombella Otiorum n. sp. (Riv. di patol. vegetale. Vol. IX. 1900. No. 1/5. p. 127—128.)

Bokorny, Th., Translokations- und Sekretionsdiastase. (Allg. Brauer- u. Hopfen-Ztg. 1901. No. 104. p. 1205.)

—, Vergleiche über das Verhalten der Hefezelle und ihrer Enzyme bei schädlichen Einwirkungen. (Chemiker-Ztg. 1901. No. 34. p. 365—366.)

Boni, J., Sulla capsula dei batterii. [II. nota prevent.] (Riforma med. 1901. No. 106. p. 363.)

Brucker, E., La bouche des Ixodes (Acar.). (Bullet. de la soc. entomol. de France. 1901. No. 6. p. 142—143.)

- Conte, A.**, Sur l'évolution des feuilletts blastodermiques chez les nématodes. (Compt. rend. de l'Acad. d. scienc. T. CXXXII. 1901. No. 17. p. 1064—1066.)
- Ehlers, E.**, Die Anneliden der Sammlung Plate. (Zool. Jahrb. Suppl. V. Bd. II. 1901. Heft 2. p. 251—272.)
- Fletcher, J. and Gibson, A.**, The life-history of the greenhouse Leaf-tyer. (Phlyctenaria ferrugalis, Hbn. = Botis Harveyana, Grt.) (Canad. entomol. 1901. No. 5. p. 140—144.)
- Fuhrmann, O.**, Neue Arten und Genera von Vogeltänien. [Vorl. Mitteil.] (Zool. Anzeiger. 1901. No. 643. p. 271—273.)
- , Bemerkungen über einige neuere Vogelcestoden. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXIX. 1901. No. 19. p. 757—763.)
- Fyles, T. W.**, The dragon-flies of the province of Quebec. (31. ann. rep. of the entomol. soc. of Ontario 1900. Toronto 1901. p. 52—55.)
- Giles, G. M.**, Notes on Indian mosquitoes. (Journ. of tropical med. Vol. IV. 1901. No. 10. p. 159—162.)
- Gregson, P. E.**, Habits of the larvae of Dermestes talpinus (Mann.) (31. ann. rep. of the entomol. soc. of Ontario 1900. Toronto 1901. p. 84—85.)
- Isler, E.**, Die Nemertinen der Sammlung Plate. (Zool. Jahrb. Suppl. V. Bd. II. 1901. Heft 2. p. 273—280.)
- Jourdain, S.**, Pièces buccales des Ixodidés (Acar.). (Bulet. de la soc. entomol. de France. 1901. No. 6. p. 142.)
- Knörrich, F. W.**, Studien über die Ernährungsbedingungen einiger für die Fischproduktion wichtiger Mikroorganismen des Süßwassers. (Forschungsber. a. d. Biol. Station zu Plön. Teil 8. p. 1—52.) Stuttgart (Nägele) 1901.
- Kutscher, Fr.**, Ueber das Hefetrypsin. (Hoppe-Seyler's Ztschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXXII. 1901. Heft 5. p. 419—424.)
- Loew, O.**, Catalase, a new enzym of general occurrence, with special reference to the tobacco plant. (U. S. Departm. of agricult. Rep. No. 68.) gr. 8°. 47 p. Washington 1901.
- Low, G. C.**, The development of Filaria nocturna in different species of mosquitos. (Brit. med. Journ. 1901. No. 2109. p. 1336—1337.)
- Plate, L. H.**, Ueber einen einzelligen Zellparasiten (Chitonicium simplex) aus der Mantelhöhle von Chitonen. (Zool. Jahrb. Suppl. V. Bd. II. 1901. Heft 2. p. 601—606.)
- v. Schilling**, Allerlei aus dem Fliegenreich. (Prakt. Ratgeber im Obst- u. Gartenbau. 1901. No. 20, 21. p. 193—194, 202—204.)
- Schlater, G.**, Die phylogenetische Entwicklung der sog. Protozoen. (Medizinsk. pribawl. k morsk. sborn. 1900. Sept.-Dez.) [Russisch.]
- Stassano, H.**, Sur la fonction de relation du petit noyau des trypanosomes. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1901. No. 16. p. 468—470.)
- Uuna, P. G.**, Ueber die feinere Struktur der Kokken. (Dtsche Medizinal-Ztg. 1901. No. 44. p. 517—519.)
- Vaney, C. et Conte, A.**, Sur des phénomènes d'histolyse et d'histogénèse accompagnant le développement des trématodes endoparasites de Mollusques terrestres. (Compt. rend. de l'Acad. d. scienc. T. CXXXII. 1901. No. 17. p. 1062—1064.)
- Voigt, W.**, Entocolax Schiemenzii n. sp. (Zool. Anzeiger. 1901. No. 643. p. 285—292.)
- Webster, F. M.**, Observations on several species of Dermestidae. (31. ann. rep. of the entomol. soc. of Ontario 1900. Toronto 1901. p. 85—86.)
- Will, H.**, Studien über die Proteolyse durch Hefe. [II. Mitteil.] (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. 1901. No. 9—17. p. 113—116, 125—130, 137—142, 149—154, 173—176, 189—191, 205—210, 221—226, 241—247.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur. Luft und Wasser.

- Vallin, E.**, L'enquête officielle sur les sources de l'Avre et de la Vanne. (Rev. d'hyg. et de police sanit. 1901. No. 4. p. 296—340.)

Nahrungs- und Genußmittel, Gebrauchsgegenstände. Fleisch.

- Grünbaum, A. S.**, Note on the value of experiments in the question of food preservatives. (Brit. med. Journ. 1901. No. 2109. p. 1337.)

Lange, L., Beitrag zur Frage der Fleischkonservierung mittels Borsäure-, Borax- und schwefligsauren Natronzusätzen. Mit einem Anhang, Milchkonservierung betr. (Arch. f. Hygiene. Bd. XL. 1901. Heft 2. p. 143—186.)

Milch, Molkerei.

- Haffner, E.**, Ueber den Einfluß von Salzen auf die Säuregerinnung der Milch. [Diss.] gr. 8^o. 16 p. m. 5 Fig. Tübingen (Franz Pietzcker) 1901. 0,70 M.
Happich, C., Mitteilungen aus der milchwirtschaftlichen Abteilung der bakteriologischen Station des Veterinärinstituts in Jurjew (Dorpat). (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. 1901. Heft 9. p. 257—259.)
Ooker, Die polizeiliche Ueberwachung des Verkehrs mit Milch. (Dtsche Vierteljahrsschr. f. ö. Gesundheitspfl. 1901. Heft 2. p. 244—266.)
Serkowski, S., Mleko i bacterye. 8^o. 129 p. Warszawa 1900.
Rauch, J., Wie kann die Anlieferung saurer Milch in unsere Molkereibetriebe verhindert werden und wie ist die Feststellung etwaiger Säuerung vorzunehmen? (Illustr. landwirtschaftl. Ztg. 1901. No. 38. p. 403.)

Bier, Brauerei.

Schönfeld, F., Die Bakterieninfektionen bei den obergärigen Bieren. (Wchschr. f. Brauerei. 1901. No. 21. p. 274—277.)

Wein, Weinbereitung.

- Bouffard, A.**, Cassettes des vins. (Rev. de viticult. 1901. No. 381. p. 369—374.)
Manceau, E., Sur la seconde fermentation ou prise de mousse des vins de Champagne. (Compt. rend. de l'Acad. d. scienc. T. CXXXII. 1901. No. 16. p. 1003—1006.)
Meißner, E., Anleitung zur mikroskopischen Untersuchung und Reinzüchtung der häufigsten im Most und Wein vorkommenden Pilze. gr. 8^o. XI, 96 p. m. 61 Fig. Stuttgart (Eugen Ulmer) 1901. 2,40 M.
Wortmann, J., Die Verhütung des Bitterwerdens und die Behandlung bitter gewordener Rotweine. (Mitteil. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. 1901. No. 5. p. 65—70.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

- Beijerinck, M. W.**, Ueber oligonitrophile Mikroben. (Orig.), p. 561.
Gottheil, O., Botanische Beschreibung einiger Bodenbakterien. (Orig.) [Forts.], p. 582.
Ludwig, F., Bemerkung zu Dr. W. Holtz' Arbeit über Baumflüsse. (Orig.) p. 599.
Wehmer, C., Zum Fehlschlagen der Sporangien bei *Mucor Rouxii*, p. 599.
Went, F. A. F. C., *Monilia sitophila* (Mont.) Secc., ein technischer Pilz Javas. (Orig.) [Schluß.], p. 591.

Referate.

- Jahn, E.**, Myxomycetenstudien. 1. *Dictydium umbilicatum* Schrader, p. 600.
Kühn, Die Assimilation des freien Stickstoffes durch Bodenbakterien ohne Symbiose mit Leguminosen, p. 601.

- Pospjelow, W.**, Die Parasiten der Hessenfliege in Rußland, p. 602.
Eh, L., Züchtergebnisse mit *Aspidiotus perniciosus* Comst., p. 603.
 — —, Versuche über die Widerstandsfähigkeit von Diaspinen gegen äußere Einflüsse, p. 605.
 — —, Ueber *Aspidiotus ostreaeformis* Curt. und A. Pyri Licht., p. 604.
 — —, Ueber Schildbildung und Häutung bei *Aspidiotus perniciosus* Comst., p. 604.
 — —, Untersuchungen an amerikanischen Obstschildläusen, p. 604.
Zimmermann, A., Over de Enchytraeiden en haar voorkomen in de koffiewortels, p. 602.
 — —, Over eene schimmel-epidemie der greene luis, p. 603.
 — —, Over een nieuwen koffieboorder p. 603.

Neue Litteratur, p. 606.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Prof. Dr. J. Behrens in Weinsberg i. W.,
Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Dr. v. Freudenreich in Bern, Privatdocent
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Dr. G. Harris Morris
in London, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädenswil, Dr. Erwin F. Smith in
Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr.,
Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel
und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Berlin

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VII. Band.

Jena, den 29. August 1901.

No. 17/18.

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark.

Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg.

Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Ueber eiweissbildende Bakterien.

Von Dr. Gerlach und Dr. Vogel, Posen.

I. Teil.

Im Verlaufe unserer Arbeiten über diejenigen Mikroorganismen, welche die Umsetzung der stickstoffhaltigen Verbindungen im Boden und im Stalldünger bewirken, sind wir auf eine weit verbreitete Gruppe von Bakterien gestoßen, deren Thätigkeit bisher

wenig erforscht worden ist. Es sind dies Bakterien, welche den Salpeter- und Ammoniakstickstoff, sowie denjenigen einiger organischen Stoffe in Eiweißstickstoff überführen. Bei den höheren, chlorophyllführenden Pflanzen ist die Bildung von Eiweiß aus Salpeter- und Ammoniaksalzen das Natürliche und es überwiegt hier die Eiweißproduktion bei weitem die Eiweißzersetzung, so daß durch die grünen Pflanzen während ihres Wachstums große Mengen Eiweiß gebildet werden. Den Bakterien schreibt man dagegen zur Zeit nur vereinzelt die Fähigkeit zu, den Stickstoff anorganischer Verbindungen in Eiweißstickstoff überzuführen, und ist der Ansicht, daß dieselben weit mehr Eiweiß zersetzen als aufbauen, so daß sie sich in der Regel nur auf eiweißhaltigen Nährböden lebhaft entwickeln können.

Es weisen jedoch schon jetzt eine Reihe von Vorgängen, welche sich in der Natur abspielen, darauf hin, daß die Eiweißbildung durch Bakterien keineswegs so selten ist und recht ansehnliche Mengen durch dieselben produziert werden können. Aus den eingehenden Untersuchungen von Winogradsky geht hervor, daß die von ihm isolierten Nitrit- und Nitratbildner sich recht gut entwickeln, wenn ihnen als einzige Stickstoffquelle nur Ammoniaksalze, resp. hieraus gebildete Nitrite zur Verfügung stehen. Beide Bakterienarten müssen demnach das zum Aufbau ihres Körpers erforderliche Eiweiß unter Verwertung obiger Stickstoffverbindungen bilden können. Ferner ist festgestellt worden, daß sich gewisse Arten der salpeterzersetzenden Bakterien in Nährlösungen kräftig entwickeln, welche von stickstoffhaltigen Verbindungen nur Salpeter enthalten¹⁾. Dabei wird niemals die Gesamtmenge des letzteren unter Bildung von freiem Stickstoff zersetzt, sondern ein Teil desselben zur Produktion von Eiweiß benutzt. Die Bildung von Eiweiß aus Ammoniaksalzen durch die Thätigkeit von Bakterien wird auch von Flügge²⁾ angenommen, doch ist derselbe der Ansicht, daß jene Salze wenig günstige stickstoffhaltige Nährstoffe für Bakterien sind. Des weiteren muß den Knöllchenbakterien der Leguminosen die Fähigkeit, Eiweiß zu bilden, zugesprochen werden, und es ist bekannt, daß auf diese Weise sehr große Mengen des freien Stickstoffes der atmosphärischen Luft in Eiweißstickstoff übergeführt werden können.

Im übrigen legte man jedoch, wie bereits erwähnt, der eiweißbildenden Thätigkeit der Bakterien keine besondere Bedeutung bei und glaubte, daß in Betracht kommende Mengen desselben nur durch die Knöllchenbakterien produziert würden. Wo man daher, wie z. B. beim Lagern des Stalldüngers, unter gewissen Verhältnissen die Bildung größerer Mengen von Eiweiß beobachtete, da wurde angenommen, daß dies durch höhere Organismen, besonders die Schimmelpilze, bewirkt würde. So lassen es auch noch Krüger und Schneidewind unentschieden, ob das bei ihren Versuchen

1) Burri u. Stutzer, *Centrabl. f. Bakt. etc.* II. Abt. Bd. I. 1895. p. 393. — Schneidewind, *Jahrbuch d. agrik.-chem. Versuchstation Halle a. S.* 1896. p. 72. — Gerlach u. Krenz, *Jahresbericht der landw. Versuchstation Posen.* 1897. p. 7.

2) Flügge, *Die Mikroorganismen.* Bd. I. 1896. p. 118 u. 119.

mit Stalldünger entstandene Eiweiß durch Schimmelpilze oder Bakterien erzeugt worden ist¹⁾, und Pfeiffer, welcher der Ansicht ist, daß im Boden größere Mengen Salpeterstickstoff in Eiweißstickstoff übergeführt werden, schreibt diese Umsetzung den Bodenorganismen (Bakterien und Pilzen) zu²⁾. Eine Reihe von Versuchen, welche wir ausgeführt haben, und über welche im Nachfolgenden ausführlich berichtet werden soll, zeigt, daß eiweißbildende Bakterien in der Natur recht verbreitet sind und unter gewissen Bedingungen eine rege Thätigkeit entfalten können, so daß es ihnen gelingt, innerhalb verhältnismäßig kurzer Zeit größere Mengen Salpeter- und Ammoniakstickstoff sogar quantitativ in Eiweißstickstoff überzuführen.

Vorkommen der eiweißbildenden Bakterien.

Wir fanden dieselben in sämtlichen von uns untersuchten Böden, sowie in jedem Stalldünger. Es gelang bisher, 7 verschiedene Arten zu isolieren und zwar 4 derselben aus Ackerböden, 3 derselben aus dem Stalldünger. Diese Arten sind im Folgenden als Kulturen 1—7 bezeichnet worden.

Allgemeine Eigenschaften und kulturelles Verhalten derselben.

Die von uns isolierten, eiweißbildenden Bakterien sind sämtlich kurze, lebhaft sich bewegende Stäbchen, welche sich mit den gewöhnlichen Anilinfarben färben. Eine Sporenbildung konnte nicht beobachtet werden. Sie wachsen auf allen gebräuchlichen Nährböden, verflüssigen Gelatine sehr schnell und bilden auch bei Gegenwart von Traubenzucker oder Nitrat kein Gas. In wässrigen Nährlösungen gedeihen sie recht gut, wenn denselben außer kleinen Mengen der erforderlichen Mineralstoffe als Kohlenstoffquelle Traubenzucker, Glycerin, Stroh, milchsaure Salze etc. und als Stickstoffquelle Salpeter, Ammoniaksalze oder Harnstoff zugeführt werden. Fehlen die stickstofffreien oder stickstoffhaltigen Nährstoffe, so tritt kein bemerkenswertes Wachstum ein. Die eiweißbildenden Bakterien haben daher nicht die Fähigkeit, sich die Kohlensäure oder den Stickstoff der atmosphärischen Luft nutzbar zu machen. Dagegen besitzen sie sämtlich das Vermögen, den Stickstoff der angeführten stickstoffhaltigen Verbindungen in Eiweißstickstoff überzuführen. Unter streng anaëroben Bedingungen gedeihen sie nicht.

Milch wird von sämtlichen 7 Arten zum Gerinnen gebracht und zwar von einigen bereits innerhalb 48 Stunden, von anderen erst nach längerer Zeit. Mehrere der isolierten Arten bilden ein grünlich fluoreszierendes Pigment auf Agar und Gelatine. Einige färben Kartoffelscheiben an der Oberfläche dunkel und wiederum andere erzeugen auf denselben einen hellgelben, feuchtglänzenden Belag. Die Bildung von Deckhäutchen auf flüssigen Nährlösungen konnte nur bei einigen Arten beobachtet werden.

1) Jahresbericht der agrik.-chem. Versuchsstation Halle a. S. 1897. p. 76.

2) Landw. Versuchsstation. Bd. LIV. p. 434.

Verhalten der eiweißbildenden Bakterien gegen stickstoffhaltige Verbindungen.

a) Salpetersaure Salze.

Auf Agaragar, Gelatine und in Bouillon, welche kleine Mengen (0,3 Proz.) Natriumnitrat enthalten, entwickeln sich die eiweißbildenden Bakterien sehr üppig und zersetzen das Nitrat schnell unter Bildung von Eiweiß.

Um ihr Verhalten gegen Nitrat näher zu studieren, stellten wir uns eine Nährlösung dar, welche nur diese Stickstoffverbindung enthielt.

Die Lösung hatte folgende Zusammensetzung:

1000,0 g	destilliertes Wasser,
5,0 "	Traubenzucker,
0,5 "	Kaliumphosphat,
0,3 "	Magnesiumsulfat,
0,5 "	Chlornatrium,
0,5 "	Natriumbikarbonat,
0,2 "	Ferrosulfat,
3,0 "	Natriumnitrat (chem. rein, Merck).

Führte man obiger Lösung nach dem Sterilisieren eiweißbildende Bakterien zu, so entwickelten sich dieselben sehr lebhaft. Schon nach kurzer Zeit trat Nitritbildung ein. Dagegen ließ sich niemals Ammoniak nachweisen. Nitrat und Nitrit verschwanden allmählich und nach 5—10 Tagen enthielten jene Lösungen (100 ccm) niemals mehr Nitrat oder Nitrit. Trotzdem war der Stickstoff noch vollständig in den Kulturen enthalten, wie nachstehende Versuche zeigen¹⁾.

In 4 Kölbchen wurden je 100 ccm obiger nitrathaltiger Nährlösung gegeben. Nach dem Sterilisieren impften wir:

Kölbchen	I	mit eiweißbildenden Bakterien,	Kultur	3
"	II	"	"	5
"	III	"	"	6
"	IV	blieb ungeimpft.		

Sämtliche 4 Kölbchen wurden hierauf im Brutschranke bei 28° C aufbewahrt. In den geimpften Kulturen trat sehr bald Bildung von Nitrit ein, aber dieses sowohl, wie das Nitrat verschwand allmählich, so daß später die Reaktion mit Brucin und Jodkaliumstärke ein negatives Resultat ergab. Ebenso wenig ließ sich Ammoniak nachweisen. Dagegen gab das ungeimpfte Kölbchen noch nach 6 Wochen eine sehr starke Nitratreaktion. Der Stickstoffgehalt jedes Kölbchens betrug bei Beginn des Versuches 0,050 g.

Wir fanden nun in

Kölbchen	I	nach 3 Wochen	0,049 g	Gesamtstickstoff
"	II	" 5 "	0,051 "	"
"	III	" 6 "	0,049 "	"
"	IV (ungeimpft)	" 6 "	0,049 "	"

Die Versuche zeigen also, daß auch in den geimpften Kölbchen noch sämtlicher Stickstoff vorhanden war, jedoch weder

1) Ueber die Methoden der Stickstoffbestimmung werden wir am Schlusse der Arbeit ausführlich berichten.

in Form von Nitrat, Nitrit noch als Ammoniak, sondern, wie nachstehender Versuch zeigt, als unlösliches Eiweiß.

1 l der oben beschriebenen nitrathaltigen Nährlösung wurde nach dem Sterilisieren mit dem eiweißbildenden Bakterium Kultur 5 geimpft und hierauf im Brutschranke bei 25° C aufbewahrt. Nach 14 Tagen ließ sich in der Nährlösung kein löslicher Stickstoff (Nitrat, Nitrit, Ammoniak, lösliches Eiweiß) mehr nachweisen.

Nunmehr wurde ein Teil dieser Lösung durch ein sterilisiertes Thonfilter filtriert. Die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl in 200 ccm des so erhaltenen vollkommen klaren Filtrates ergab 0,0014 g Stickstoff, während in demselben (200 ccm) ursprünglich 0,100 g enthalten waren. Das Filtrat war also so gut wie stickstofffrei, denn die geringe Menge von 1,4 mg Stickstoff kommt nicht in Betracht und da, wie die obigen Versuche ergeben, Stickstoffverluste nicht stattfinden, so war der Salpeterstickstoff zur Produktion von unlöslichem Bakterieneiweiß benutzt worden.

Eiweißbildende Bakterien sind demnach imstande, bei Gegenwart von Traubenzucker und, wie unsere anderen Versuche zeigen, auch Glycerin, Stroh etc. Nitratstickstoff quantitativ in unlöslichen Eiweißstickstoff überzuführen.

Diese Umsetzung des Salpeterstickstoffes tritt sehr schnell ein, wenn der Gehalt der Lösung zwischen 0,3—0,5 Proz. Natriumnitrat schwankt. Bei einem Zusatze von 1 Proz. wird die Umwandlung bereits schon merklich verzögert und bei 2 Proz. tritt nur ein kümmerliches Wachstum der Eiweißbildner ein. Bei noch höheren Zusätzen bleibt die Lösung steril.

Kulturen der eiweißbildenden Bakterien, welche längere Zeit auf nitratfreien Nährböden fortgezüchtet wurden, haben bisher ihre Fähigkeit, Salpeterstickstoff in Eiweißstickstoff überzuführen, nicht verloren, arbeiten jedoch anscheinend langsamer, als solche, welchen stets Nitrate zugänglich waren.

b) Ammoniaksalze.

Zu den Versuchen wurde gleichfalls die oben beschriebene, wässrige Nährlösung benutzt, welche jedoch an Stelle des salpetersauren Natriums entweder 0,2 Proz. Ammoniumsulfat, -nitrat oder -karbonat enthielt. Bei Darstellung der zuletzt genannten Nährlösung, welche wegen der Flüchtigkeit des Ammoniumkarbonats nicht im Dampfstrom sterilisiert werden konnte, wurde derartig verfahren, daß nach beendeter Sterilisation der stickstofffreien Nährlösung die entsprechende Menge Ammoniumkarbonat, welche in sterilisierten Schalen abgewogen war, zugesetzt wurde. Die so gewonnenen Nährlösungen erwiesen sich stets keimfrei. Die eiweißbildenden Bakterien wuchsen in sämtlichen Ammoniaknährlösungen rasch und üppig. Bei Anwendung von Ammoniumsulfat und -karbonat war selbst nach monatelanger Beobachtung niemals Salpetersäure oder salpetrige Säure nachweisbar. Dagegen bildete sich in den Nährlösungen mit Ammoniumnitrat sehr bald Nitrit. Es gelang jedoch niemals, das Nitrat, ebensowenig wie das Ammo-

niak, vollständig zum Verschwinden zu bringen. In den Lösungen mit Ammoniumkarbonat nahm der Gehalt an Ammoniak allmählich ab, jedoch auch dann, wenn dieselben ungeimpft und steril blieben. Es ist dies, wie spätere Versuche zeigen, auf die schnelle Verflüchtigung des Ammoniumkarbonats zurückzuführen.

Enthielten die Nährlösungen Ammoniumsulfat oder -nitrat, so blieb der Stickstoff, auch wenn sie mit eiweißbildenden Bakterien geimpft waren, vollständig erhalten. Nachstehende Versuche bestätigen dies.

8 Kölbchen wurden mit je 100 ccm Ammoniumsulfatnährlösung gefüllt, mit eiweißbildenden Bakterien geimpft und einige Wochen bei 25° C aufbewahrt. Während dieser Zeit leiteten wir an verschiedenen Tagen einen sterilen und von Ammoniak befreiten Luftstrom durch dieselben.

Jedes Kölbchen enthielt zu Anfang 0,0503 g Gesamtstickstoff, die Untersuchung ergab nach 22 Tagen in 4 der geimpften Kölbchen im Mittel 0,0567 g Gesamtstickstoff. Es war demnach kein Stickstoff verloren gegangen. Die 4 übrigen Kölbchen wurden noch 18 weitere Tage, also im ganzen 40 Tage aufbewahrt. Sie enthielten nach dieser Zeit noch folgende Mengen Ammoniakstickstoff:

Kölbchen mit Kultur	3	0,0300 g Ammoniakstickstoff	
"	5	0,0434 "	"
"	6	0,0440 "	"
"	7	0,0310 "	"

Der Ammoniakgehalt hatte also bedeutend abgenommen und da, wie erstere Versuche zeigen, kein Ammoniak durch Verflüchtigung oder Bildung von freiem Stickstoff verloren geht und sich auch kein Nitrat und Nitrit bildet, so muß der übrige Teil des Stickstoffes in Eiweißstickstoff übergeführt worden sein. Es hat demnach Kultur 6 innerhalb 40 Tagen 12,5 Proz. und Kultur 3 während dieser Zeit 40,3 Proz. des Ammoniakstickstoffes umgesetzt.

Auch in diesem Falle bilden sich in Wasser unlösliche Eiweißstoffe, wie nachstehender Versuch ergibt.

Ein Kolben wurde mit 1 l Ammoniumsulfatnährlösung gefüllt, mit eiweißbildenden Bakterien (Kultur 3) geimpft und 42 Tage bei 25° C aufbewahrt. Nach dieser Zeit wurde der Inhalt des Kolbens durch eine sterilisierte Thonkerze filtriert und im Filtrat, welches keine Reaktion auf Eiweiß, Nitrit und Nitrat gab, der Ammoniakstickstoff bestimmt. Wir fanden nur noch 0,0218 g derselben, während ursprünglich 0,0420 g in dieser Lösung enthalten waren. 48,6 Proz. des Ammoniakstickstoffes waren demgemäß in unlöslichen Eiweißstickstoff übergeführt worden.

Obige Versuche zeigen jedoch auch, daß die Bildung von Eiweiß aus Ammoniak durch die betreffenden Bakterien bedeutend langsamer verläuft, als diejenige aus Nitrat, denn 0,05 g Nitratstickstoff wurden bereits innerhalb 14 Tagen vollständig in Eiweißstickstoff umgesetzt, während von 0,042 g Ammoniakstickstoff innerhalb 6 Wochen im günstigsten Falle nur 0,0218 g = 48,6 Proz. zur Eiweißproduktion verwendet worden sind. Eine Bildung von

Nitrat oder Nitrit, sowie von freiem Stickstoff aus Ammoniumsulfat konnte, wie bereits erwähnt ist, niemals beobachtet werden.

Von besonderem Interesse war es, das Verhalten der eiweißbildenden Bakterien gegen Ammoniumkarbonat eingehender zu prüfen, denn die Erfahrung lehrt, daß der in der Jauche des Stalldüngers enthaltene Stickstoff zu einem wesentlichen Teile in dieser Form vorhanden ist und die Stickstoffverluste, welche beim Aufbewahren von Jauche und Stalldünger auftreten, zum weitaus größten Teile durch Verflüchtigung von Ammoniumkarbonat entstehen. Es ist daher nicht allein wissenschaftlich, sondern auch praktisch von großer Bedeutung, festzustellen, ob es mit Hilfe der eiweißbildenden Bakterien möglich ist, wesentliche Mengen des Ammoniumkarbonates schnell in Eiweiß überzuführen und so den Stickstoff in der Jauche oder dem Stalldünger festzuhalten.

3 Kölbchen wurden mit je 100 ccm einer wässrigen, sterilisierten Nährstofflösung gefüllt, welche 0,4 Proz. Ammoniumkarbonat enthielt. 2 dieser Kölbchen impften wir hierauf mit eiweißbildenden Bakterien (Kultur 6 und 7), während das dritte ungeimpft blieb.

In den beiden geimpften Kölbchen trat sehr bald eine lebhafte Entwicklung der Eiweißbildner ein. Das ungeimpfte Kölbchen blieb dagegen steril. Nitrit, Nitrat und freier Stickstoff wurden auch hier nicht gebildet. Die Untersuchung nach 42 Tagen lieferte folgendes Resultat:

In 100 ccm der Nährlösung waren bei Beginn des Versuches enthalten:

0,0695 g Gesamt(-Ammoniak)stickst.

Nach 42 Tagen enthielt:

Kölbchen, geimpft m. Kult. 6 0,0130 „ Ammoniakstickstoff,

„ ungeimpft 0,0170 „

„ geimpft m. Kult. 7 0,0270 „ Gesamtstickstoff.

Der Versuch ergibt also zunächst, daß sowohl aus den geimpften, als aus den ungeimpften Kölbchen der größte Teil des Stickstoffes entwichen ist. In dem ungeimpften Kölbchen waren nach 42 Tagen nur noch 25 Proz. des zugesetzten Ammoniakstickstoffes enthalten, und da der Inhalt desselben sich als steril erwies, eine Umsetzung des Ammoniakstickstoffes also nicht stattgefunden hatte, so repräsentierte diese Zahl die Gesamtmenge des noch vorhandenen Stickstoffes. Es waren also durch Verdunstung von Ammoniak 75 Proz. des zugesetzten Stickstoffes aus dem ungeimpften Kölbchen verloren gegangen. Das Kölbchen, welches mit den Eiweißbildnern, Kultur 7, geimpft war, enthielt nach 42 Tagen noch 39 Proz. Gesamtstickstoff. Also auch hier verschwand der größte Teil (61 Proz.) des Stickstoffes und zwar gleichfalls in Form von Ammoniak. Es waren jedoch in diesem Kölbchen nach 42 Tagen 14 Proz. mehr Stickstoff als in dem ungeimpften vorhanden, und da die Aufbewahrung der beiden Kölbchen sonst unter denselben Bedingungen stattfand, so erscheint es nicht unwahrscheinlich, daß dieser Stickstoffgewinn durch die Thätigkeit der Eiweißbildner erzielt wurde, welchen es gelang, gewisse Mengen Ammoniakstickstoff in Eiweißstickstoff überzuführen und

so vor einer Verflüchtigung zu bewahren. Aber der Versuch zeigt auch, daß die noch vorhandenen 39 Proz. Stickstoff, zum Teil noch in Form von Ammoniak, vorhanden waren, denn die Flüssigkeit roch nach 42 Tagen noch stark nach Ammoniak und zeigte mit Neßler'schem Reagens eine recht kräftige Ammoniakreaktion. In dem Kölbchen, welches mit Kultur 6 geimpft war, ergab die Bestimmung nach 42 Tagen noch 18 Proz. Ammoniakstickstoff. Die Umsetzung des Stickstoffes in Ammoniumkarbonat durch die Eiweißbildner scheint demgemäß recht langsam vor sich zu gehen und es müssen schon recht günstige Bedingungen vorhanden sein, wenn es gelingen soll, größere Mengen des Stickstoffes aus jenem flüchtigen Salze durch die Thätigkeit der Bakterien festzulegen.

c) Harnstoff.

Eine Reihe von Versuchen lehrte uns, daß die eiweißbildenden Bakterien auch sehr gut in einer wässrigen Nährlösung von der oben beschriebenen Zusammensetzung gedeihen, wenn derselben an Stelle von Nitrat oder Ammoniaksalzen Harnstoff zugesetzt wird. Diese Beobachtung gab Veranlassung, das Verhalten jener Bakterien gegen diese Stickstoffverbindung näher zu studieren, und es wurde zu diesem Zwecke eine Nährstofflösung hergestellt welche 2 Proz. Harnstoff enthielt. Da sich derselbe beim Sterilisieren in wässriger Lösung schon teilweise zersetzt, so wurde zu der für sich allein sterilisierten Stammlösung der eine Stunde lang bei 100° trocken sterilisierte Harnstoff zugegeben. Diese Lösung erwies sich keimfrei und gab mit Neßler'schem Reagens keine Ammoniakreaktion.

Das Wachstum der eiweißbildenden Bakterien in dieser Lösung verläuft sehr gut und ist stets mit einer Ammoniakbildung verbunden. Letzteres konnte bereits nach kurzer Zeit durch das Neßler'sche Reagens und später auch durch den Geruch und durch Lackmuspapier nachgewiesen werden. Nitrat und Nitrit, sowie freier Stickstoff werden nicht gebildet. Des weiteren ergaben die Kulturen niemals Reaktionen auf lösliche Eiweißstoffe, dagegen schieden sich in denselben große Bakterienmassen ab.

Eine Reihe von Versuchen sollte nun zunächst zeigen, ob durch die Einwirkung von eiweißbildenden Bakterien auf Harnstoff und das hieraus gebildete Ammoniak ein Verlust von Stickstoff entsteht. Zu diesem Zwecke wurden 5 Kölbchen mit je 100 ccm der Harnstoffnährlösung gefüllt und entweder ungeimpft oder nach der Infektion mit eiweißbildenden Bakterien 26 Tage bei 25° C aufbewahrt.

Der nach der Kjeldahl'schen Methode in 100 ccm ermittelte Gesamtstickstoffgehalt betrug

am Anfange		0,9165 g
nach 26 Tagen: Kölbchen mit Kultur 4		0,8717 "
" " " " " "	5	0,8741 "
" " " " " "	6	0,8710 "
" " " " " "	7	0,9000 "
" " " Kölbchen ungeimpft		0,9180 "

Die Zahlen zeigen, daß nach 26 Tagen noch der weitaus größte

Teil des Stickstoffes in den Nährlösungen enthalten war. Der größte Verlust betrug nur 5 Proz. Stickstoff (Kultur 6), war also sehr gering. Aus diesen Versuchen läßt sich jedoch nicht erkennen, ob trotz des üppigen Wachstums der Bakterien überhaupt eine nennenswerte Ammoniak- resp. Eiweißbildung stattgefunden hat, oder ob die Bildung dieser Stoffe so gering war, daß die Lösungen den Harnstoff zum größten Teile noch unzersetzt enthielten. Um hierüber Näheres zu erfahren, wurden wiederum 4 Kölbchen mit Harnstoffnährlösung gefüllt, mit eiweißbildenden Bakterien (Kultur 2 und 3) geimpft und 42 Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

Die Bestimmung des Stickstoffes ergab folgende Zahlen:

Es enthielt jedes Kölbchen

am Anfange	0,922 g Gesamtstickstoff
nach 42 Tagen	
Kölbchen I, geimpft mit Kultur 2	0,888 „
„ II, „ „ „ 2	0,788 „ wasserlöslich. Stickstoff
„ III, „ „ „ 3	0,897 „ Gesamtstickstoff
„ IV, „ „ „ 3	0,798 „ wasserlöslich. Stickstoff

Auch bei diesen Versuchen ist demnach ein sehr geringer Stickstoffverlust eingetreten. Derselbe betrug:

in Kölbchen 1 3,7 Proz.

„ „ 3 2,7 „

Diese Verluste beruhen auf der Bildung von Ammoniak und einer teilweisen Verflüchtigung desselben.

Aber auch die Ueberführung von löslichem Stickstoff in unlöslichen Eiweißstickstoff war nicht bedeutend. Es wurden innerhalb 42 Tagen

in Kölbchen 2 10,8 Proz.

„ 4 10,7 „

des Gesamtstickstoffes zur Eiweißbildung verbraucht, d. h. die Harnstoffzersetzung verläuft sehr langsam.

Verhalten der eiweißbildenden Bakterien gegen stickstoffhaltige Verbindungen bei Gegenwart anderer Bakterien.

Die von uns isolierten eiweißbildenden Bakterien stammten entweder aus dem Stalldünger oder aus der Erde. Die Erfahrung lehrt nun, daß sowohl der Boden als auch der animalische Dünger stets reichliche Mengen anderer Bakterien enthalten, welche bei der Umsetzung der stickstoffhaltigen Substanzen eine wesentliche Rolle spielen. In Betracht kommen hier besonders diejenigen Bakterien, welche aus Harnstoff Ammoniak bilden, jene, welche das gebildete Ammoniak oxydieren und jene, welche die Nitrite und Nitrate unter Bildung von freiem Stickstoff zersetzen.

Unsere Versuche haben nun ergeben, daß die Umsetzung des Harnstoffes durch eiweißbildende Bakterien recht langsam und träge verläuft. Die Ammoniakbildung ist selbst nach längerer Zeit gering und noch geringer die Eiweißbildung. Von 0,922 g Stickstoff einer Harnstoffnährlösung wurden innerhalb 42 Tagen nur 0,100 g resp. 0,099 g in Eiweißstickstoff übergeführt. Es lag uns nun daran, festzustellen, welchen Einfluß die eiweißbildenden Bakterien aus-

üben, wenn die Umsetzung des Harnstoffes durch ammoniakbildende Bakterien befördert wurde.

Des weiteren lehren die von uns anfangs beschriebenen Versuche, daß eiweißbildende Bakterien für sich allein den Salpeterstickstoff vollständig und ohne Verlust in Eiweißstickstoff überführen. Interessant war es nun, zu prüfen, ob auch bei Gegenwart von denitrifizierenden Bakterien jener Prozeß noch quantitativ verläuft oder ob in diesem Falle Verluste an Stickstoff eintreten.

Es ergaben sich demnach folgende Versuche:

a) Verhalten von eiweißbildenden Bakterien gegen Harnstoff bei Gegenwart von ammoniakbildenden Bakterien.

Die schnelle Umsetzung von Harnstoff in Ammoniumkarbonat wird durch bestimmte, besonders im faulenden Harn vorkommende Bakterienarten bewirkt. Wir wählten eine aus zersetztem Kuhharn isolierte Art, welche wahrscheinlich mit dem von Burri, Herfeldt und Stutzer (Journ. f. Landw. 1894. p. 329) beschriebenen *Bact. ureae* I identisch ist, als Ammoniakbildner und benutzten zu den Versuchen nicht die bereits früher beschriebene Harnstoffnährlösung, sondern eine Harnstoffbouillon mit 2 Proz. Harnstoff, da in dieser sich jene Bakterien und die Eiweißbildner besonders kräftig entwickeln. Es wurden 11 Kölbchen mit je 100 ccm obiger Nährlösung gefüllt und

6 derselben mit Eiweißbildnern und *Bact. ureae* geimpft,
 2 " " *Bact. ureae* allein geimpft,
 2 " " Eiweißbildnern " "
 1 " " ungeimpft gelassen.

Sämtliche Kölbchen bewahrten wir bei 25° C 11 resp. 19 Tage auf.

Die Bestimmung des Stickstoffes ergab folgende Zahlen:
 im Anfange pro Kölbchen 0,8936 g Harnst.-Stickst. } 1,1436 g
 0,2500 " Bouillon- " } Ges.-Stickstoff

nach 11 Tagen

im Kölbchen	I	geimpft m.	{Eiweißbildnern u. <i>Bact. ureae</i>	0,9731 g	} 0,9923 g
" "	II	" "	" "	0,9970 "	
" "	III	" "	" "	1,0030 "	
" "	IV	" "	" "	0,9960 "	
" "	VII	" "	<i>Bact. ureae</i>	0,9960 "	
" "	IX	" "	Eiweißbildnern	1,1420 "	

nach 19 Tagen

im Kölbchen	V	geimpft m.	{Eiweißbildnern u. <i>Bact. ureae</i>	0,8320 g	} 0,8120 g
" "	VI	" "	" "	0,7920 "	
" "	VIII	" "	<i>Bact. ureae</i>	0,7220 "	
" "	X	" "	Eiweißbildnern	1,0410 "	
" "	XI	ungeimpft	" "	1,1450 "	

Die Stickstoffverluste betragen demnach n. 11 Tagen n. 19 Tagen
 durch Eiweißbildner 0,0 Proz. 9,0 Proz.

" " und *Bact. ureae* 13,2 " 29,0 "
 " *Bact. ureae* 13,0 " 36,9 "

Es ergibt sich also, daß in sämtlichen Fällen die Stickstoffverluste im Laufe der Zeit zunehmen und bei Gegenwart von *Bact.*

ureae schon nach 19 Tagen eine recht ansehnliche Größe erreichten. Sie waren am größten in der Nährlösung, welche nur obiges Bakterium enthielt. In derjenigen Kultur, welcher neben dem *Bact. ureae* noch Eiweißbildner zugesetzt waren, sanken die Verluste von 36,9 Proz. auf 29,0 Proz. Ob die zurückgehaltenen 7,9 Proz. Stickstoff in Eiweißstickstoff übergeführt worden sind, ist fraglich und werden weitere Versuche zeigen. Jedenfalls ergibt der Versuch, daß bei Gegenwart von Eiweißbildnern neben *Bact. ureae* die Verluste abnehmen. Bei alleiniger Anwesenheit von Eiweißbildnern treten nach 11 Tagen noch keine Stickstoffverluste auf und nach 19 Tagen waren erst 9 Proz. des Gesamtstickstoffes verschwunden. Diese geringen Verluste sind nach den früheren Versuchen darauf zurückzuführen, daß die Eiweißbildner Harnstoff nur sehr langsam in kohlen-saures Ammoniak umsetzen. Dagegen verläuft die Zersetzung des Harnstoffes, sowie anderer stickstoffhaltiger Verbindungen aus der Bouillon und die Bildung von Ammoniumkarbonat durch das *Bact. ureae*, wie obige Versuche zeigen, so schnell, daß die eiweißbildenden Bakterien nicht imstande sind, dasselbe im gleichen Maße in Eiweiß überzuführen und infolgedessen recht bedeutende Stickstoffverluste durch Verdunstung von Ammoniak eintreten. Es waren bei Gegenwart der Eiweißbildner 29,0 Proz. des Gesamtstickstoffes innerhalb 19 Tagen verloren gegangen. Diese Verluste steigern sich im Laufe der Zeit recht erheblich, wie folgender Versuch zeigt.

Ein Kölbchen wurde mit 100 ccm Harnstoffbouillon gefüllt und hierauf mit eiweißbildenden Bakterien und *Bact. ureae* geimpft.

Die Lösung enthielt am Anfang 1,177 g Gesamtstickstoff,
nach 42 Tagen (bei 25° C) 0,496 "

Es waren demnach 57,8 Proz. des Gesamtstickstoffes durch Verflüchtigung von Ammoniak verloren gegangen. Unter den gegebenen Bedingungen hatten die eiweißbildenden Bakterien nicht verhindern können, daß sehr große Stickstoffverluste eintraten.

b) Verhalten der eiweißbildenden Bakterien gegen Nitrate bei Gegenwart denitrifizierender Bakterien.

Es ist bereits gezeigt worden, daß die eiweißbildenden Bakterien imstande sind, Nitratstickstoff quantitativ und innerhalb verhältnismäßig kurzer Zeit in Eiweißstickstoff überzuführen. Stickstoffverluste treten, sofern jene Bakterien allein in der Nährstofflösung vorhanden sind, nicht auf.

Wie gestalten sich nun aber die Verhältnisse, wenn gleichzeitig denitrifizierende Bakterien zugegen sind?

Zu den Versuchen, welche diese Frage beantworten sollten, wurde eine Lösung von folgender Zusammensetzung hergestellt.

1000 ccm dest. Wasser,
5 g Natriumnitrat,
0,5 " Kaliumphosphat,
0,3 " Magnesiumsulfat,
0,5 " Chlornatrium,
0,5 " Mononatriumkarbonat,
etwas Ferrosulfat.

Je 200 ccm dieser Lösung wurden zusammen mit je 5 g Stroh in eine Reihe Kölbchen gefüllt und im Dampfstrom sterilisiert.

Es wurde hierauf geimpft

- I. Kölbchen mit den Eiweißbildnern Kultur 7,
 II. " " " " " 6,
 III. " " " " " 7 und denitr. Bakt.,
 Kultur a,
 IV. " " " " " 6 und denitr. Bakt.,
 Kultur b,
 V. " " denitrifizierenden Bakt. Kultur a,
 VI. }
 VII. } " blieben ungeimpft.

Die so behandelten Kölbchen wurden bei 25° C aufbewahrt. Sehr bald trat in den Kölbchen III, IV und V lebhafte Schaumbildung ein, welche im Laufe der Zeit wieder nachließ. In den Kölbchen I und II entwickelte sich kein Gas und Kölbchen VI und VII blieben steril.

Nach 65 Tagen gab die Lösung in Kölbchen I, II u. III noch eine schwache Reaktion auf Salpetersäure, " IV u. V keine Reaktion auf Salpetersäure, " VI u. VII starke Reaktion auf Salpetersäure.

In 200 ccm der Nährlösung waren enthalten
 am Anfang 0,1650 g Salpeterstickstoff } Gesamtstickstoff =
 0,0220 " Stroh " } 0,1870 g,

nach 65 Tagen
 in Kölbchen I 0,184 " Gesamtstickstoff,
 " " II verunglückt,
 " " III 0,073 g Gesamtstickstoff,
 " " IV 0,023 " "
 " " V 0,028 " "
 " " VI 0,189 " "
 " " VII 0,189 " "

Die Zahlen lieferten demnach folgendes Bild:

Die Lösung in den ungeimpften Kölbchen VI und VII, sowie demjenigen, welches nur mit eiweißbildenden Bakterien geimpft war, enthielt nach 65 Tagen noch den gesamten Stickstoff.

Die Lösung des Kölbchens V, welches nur mit denitrifizierenden Bakterien geimpft war, enthielt am 65. Tage nur noch 0,028 g Stickstoff, d. h. nur unbedeutend mehr, als im Stroh zugegeben war. Fast sämtlicher Salpeterstickstoff war verschwunden und in Form von freiem Stickstoff entwichen. Aber auch die Lösung des Kölbchens IV, welches neben den denitrifizierenden Bakterien noch die Eiweißbildner enthielt, wies nach 65 Tagen nur noch 0,023 g Stickstoff auf. Also auch hier ist der gesamte Salpeterstickstoff verloren gegangen.

Im Kölbchen III, welches gleichfalls mit Eiweißbildnern und denitrifizierenden Bakterien geimpft war, betrug der Stickstoffgehalt noch 0,073 g. Die qualitative Prüfung ergab jedoch, wie bereits erwähnt wurde, daß hier noch bemerkenswerte Mengen Salpeter vorhanden waren. Die Umsetzung desselben war also nicht vollendet.

Die Eiweißbildner hatten demnach, wo sie allein auf den Sal-

peter wirkten, den Stickstoff desselben vollständig in Eiweißstickstoff übergeführt. Waren dagegen neben ihnen denitrifizierende Bakterien vorhanden, so wurde der Salpeterstickstoff vollständig (oder doch bis auf einen verschwindend geringen Teil) in Freiheit gesetzt.

Es ergibt sich demnach, daß die Eiweißbildner im Vergleich zu den denitrifizierenden Bakterien recht langsam den Nitratstickstoff verbrauchen und letzteren Bakterien doch nur sehr geringe Mengen des Nitrates entreißen können.

Die oben geschilderten Vorgänge spielten sich in wässerigen, stark verdünnten Nährlösungen ab. Es lag uns nun daran, diese Versuche unter Bedingungen zu wiederholen, unter welchen sich die Umsetzung der Nitrate im Boden vollzieht.

Zu diesem Zwecke wurde eine Reihe von Kölbchen mit je 300 g einer an der Luft getrockneten, pulverisierten und mit 5 g Strohhäcksel gemischten Gartenerde gefüllt und mit einer abgemessenen Menge einer Nitratlösung von bestimmtem Gehalt durchtränkt. Da es uns daran lag, die Versuchsanstellung den natürlichen Verhältnissen entsprechend durchzuführen, so wurde der Inhalt der Kölbchen (Erde, Stroh und Nitratlösung) nicht sterilisiert. Die zu den Versuchen benutzte Erde enthielt, wie die Untersuchung ergab, stets große Mengen eiweißbildender und denitrifizierender Bakterien, so daß eine Impfung unnötig war. Trotzdem haben wir bei einigen der Versuche eine reichliche Impfung mit eiweißbildenden oder denitrifizierenden Bakterien vorgenommen, um so diesen Bakterien ein Uebergewicht über die anderen, gleichzeitig vorhandenen Mikroorganismen zu schaffen. Die Versuche zeigen jedoch, daß hierdurch die Resultate nicht beeinflusst wurden.

Von 5 Kölbchen, welche je 300 g Erde, 5 g Stroh und 50 ccm einer 2-proz. Natriumnitratlösung enthielten, wurde

Kölbchen I	mit Eiweißbildnern	Kultur 1	u. denitr. Bakt.	Kult. a,
" II	"	"	" 1	" " " b,
" III	"	"	" 6	" " " b,
" IV	denitrifizierenden	Bakterien,	Kultur b,	geimpft,
" V	blieb ungeimpft.			

Nach 46 Tagen enthielt der Inhalt sämtlicher Kölbchen noch große Mengen Nitrat. Dagegen ließ sich kein Nitrit nachweisen.

Die Stickstoffbestimmung ergab		
im Anfang	0,163 g wasserlösl. Stickstoff	} 0,392 g Gesamtstickstoff,
	0,229 " unlösl. "	

nach 46 Tagen		
Kölbchen I	0,404 " Gesamtstickstoff,	
" III	0,399 " "	
" II	0,142 " wasserlösl. Stickstoff,	} 0,385 g Gesamtstickstoff, 0,381 g Gesamtstickstoff.
" IV	0,158 " wasserlösl. Stickstoff	
" "	0,227 " unlösl. "	
" V	0,159 " wasserlösl. Stickstoff	
" "	0,222 " unlösl. "	

Der Versuch zeigt, daß nach 46 Tagen sowohl der Gesamtstickstoff als auch der wasserlösliche Stickstoff so gut wie vollständig noch

in den Kölbchen vorhanden war. Eine Umsetzung des Salpeterstickstoffes war überhaupt nicht eingetreten, und die Ursache dieser Erscheinung ist, daß weder die Eiweißbildner noch die denitrifizierenden Bakterien in so konzentrierten Lösungen, wie die angewandte Nitratlösung, gedeihen. Verdünnt man durch Zusatz von Wasser den Inhalt der Kölbchen, so beginnt sofort die Umsetzung des Salpeterstickstoffes, es tritt lebhaftes Schaumbildung und durch Bildung von freiem Stickstoff ein Verlust desselben ein. So konnten wir in einer anderen Reihe Kölbchen, welche gleichfalls zunächst neben 300 g Erde und 5 g Stroh 50 ccm einer 2-proz. Nitratlösung erhalten hatten, trotz reichlicher Impfung mit Eiweißbildnern keine Umsetzung des Salpeterstickstoffes beobachten. Wurden dagegen der Erde noch 100 ccm Wasser zugeführt, so erfuhr der Salpeterstickstoff innerhalb 20 Tagen einen Verlust

im Kölbchen VII von 56,6 Proz.,

VIII " 50,0

während der Gehalt an " unlöslichem " Stickstoff " fast derselbe geblieben war.

Wir fanden

im Kölbchen VII 0,271 g unlösl. Stickstoff } gegeben waren 0,252 g
" " VIII 0,256 " } unlösl. Stickstoff.

Bemerkenswert ist, daß diese beiden Kölbchen nicht mit denitrifizierenden Bakterien geimpft waren. Der Versuch zeigt also, wie bereits erwähnt wurde, daß letztere im Boden vorhanden waren und ihre Thätigkeit sehr energisch ausübten, während diejenige der Eiweißbildner recht träge war. Es gelang denselben auch hier nicht, nennenswerte Mengen des Salpeterstickstoffes in unlöslichen Eiweißstickstoff überzuführen. Die Resultate dieses Versuches werden durch Nachstehendes bestätigt.

8 Kölbchen wurden mit je

300 g Erde,

5 " Stroh,

100 ccm einer 1-proz. Nitratlösung und

50 " Wasser

gefüllt. Es wurde hierauf geimpft:

Kölbchen I mit Eiweißbildnern (Kult. 6) u. denitr. Bakt. (Kult. a),

" II " " " " " " " " " "

" III " " " " " " " " " "

" IV " " " " " " " " " "

" V " " " " " " " " " "

" VI " denitrifizierenden Bakterien (Kult. a),

" VII " " " " " " " " " "

" VIII blieb ungeimpft.

In wenigen Tagen trat in sämtlichen Kölbchen starke Schaumbildung ein, welche im Laufe der Zeit wieder abnahm. Nach 45 Tagen ließ sich in keinem der Kölbchen Nitrat und Nitrit nachweisen.

Die Stickstoffbestimmung ergab:

im Anfang wasserlöslichen Stickstoff = 0,165 g,
unlöslichen " = 0,218 "

nach 45 Tagen

Kölbchen		wasserlösl. Stickstoff	= 0	Zunahme an unlösl. Stickstoff
I	unlöslicher	"	= 0,220	g + 0,002 g
II	"	"	= 0,224	" + 0,006 "
III	"	"	= 0,230	" + 0,012 "
IV	"	"	= 0,232	" + 0,014 "
V	"	"	= 0,230	" + 0,012 "
VI	"	"	= 0,232	" + 0,014 "
VII	"	"	= 0,218	" + 0,000 "
VIII	"	"	= 0,220	" + 0,002 "

Der wasserlösliche Nitratstickstoff ist also vollständig verschwunden, ohne daß eine wesentliche Vermehrung des unlöslichen Stickstoffes stattgefunden hat, und es ist ganz gleichgültig gewesen, ob dem Inhalt der Kölbchen Eiweißbildner, denitrifizierende Bakterien, beide zusammen oder keine Bakterien durch eine Impfung zugeführt worden waren.

Nachdruck verboten.

Die Agglutination von Hefe.

[Aus dem Laboratorium der Nederl. Gist- en Spiritus Fabriek in Delft.]

Von Dr. H. P. Barendrecht.

Die Agglutination ist bis jetzt meist nur bei pathogenen Bakterien studiert. Ueber das Zusammenballen von Hefen, wiewohl auch von technischem Interesse, liegen noch keine Experimentalstudien vor.

Im Folgenden gebe ich die Resultate meiner Untersuchungen über die Agglutination der Hefe in Reinkultur und in den Verhältnissen der Technik.

Die ersten Experimente wurden ausgeführt mit einer Reinkultur, die aus hiesiger Preßhefe isoliert worden war. Einige vorläufige Versuche über die eigentümliche Wirkung von Säuren auf eine Aufschwemmung von Hefe führten mich bald zur systematischen Verfolgung derselben.

Es wurde von dieser Reinhefe ein genügendes Quantum als Preßhefe dargestellt und hiervon wurden 5 g in 100 ccm Wasser suspendiert. Eine Reihe Reagenzgläschen wurde dann mit 15 ccm dieser Aufschwemmung beschickt und dieser gegenüber eine zweite Reihe gestellt mit aufsteigendem Säuregehalte. Das erste bekam 0,2 ccm $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure, das zweite 0,3 ccm und so weiter.

Also:

No. des Reagenzgläschens: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9
ccm $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0.

Nun wurden möglichst schnell nacheinander die Hefesuspensionen aus den ersten Reagenzgläschen in die gegenüberstehenden, die Säure enthaltenden, gegossen und durchgeschüttelt. Nach einigen

Minuten ballte die Hefe sich dann zusammen und sank zu Boden. Die Zeit, nach welcher dieses erfolgte, zeigte sich aber genau abhängig von dem Säuregehalte. Zuerst, nach 4 Minuten, wurden deutliche Flocken gesehen in No. 4, nach 6 Minuten in No. 5, dann nach 8 Minuten in No. 6. Die Flocken setzten sich scharf ab, so daß nach etwa 10 Minuten bereits 2 Schichten mit deutlicher Abscheidung sich geformt hatten. Inzwischen war auch der Inhalt der anderen Gläser allmählich agglutiniert. Aber je höher der Säuregehalt, desto langsamer und unvollkommener. No. 1 und No. 2 zeigten keinen Unterschied gegenüber einem Kontrollgläschen, das mit 5-proz. Hefesuspension ohne Säurezusatz versehen war. Hier war keine Spur von Agglutination zu sehen, selbst nicht nach stundenlangem Stehenlassen.

Dieses scharf markierte Optimum der Säurekonzentration blieb bei Wiederholung der Versuche nahezu konstant. Bisweilen war es bei einem Säuregehalte von 0,6 ccm, aber dann war doch beiderseitig der Zustand ganz wie oben beschrieben.

Haben wir es hier mit einer spezifischen Wirkung der Schwefelsäure zu thun oder verhalten sich andere Säuren ebenso?

Dieselben Experimente, wiederholt mit Salzsäure, Phosphorsäure, Ameisensäure, Essigsäure, Propionsäure, Valeriansäure, ergaben, daß der gleiche Säuretiter nicht gleiche Wirkung hatte, aber daß, je schwächer die Säure, desto höher der Gehalt, der am schnellsten agglutinierte. So war die optimale Konzentration von Essigsäure 2 ccm $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure in 15 ccm Hefesuspension, von Ameisensäure 0,8 ccm. Die Differenz zwischen den am ersten agglutinierenden Gläschen und den übrigen war bei diesen schwächeren Säuren nicht so scharf wie bei Schwefelsäure und Salzsäure. Aber der Gehalt, welcher noch gar keine Wirkung hatte, war hier doch stets viel höher.

Die Salze der untersuchten Säuren waren gänzlich inaktiv.

Die Zellen zeigen durch die Agglutination keine unter dem Mikroskop sichtbare Aenderung. Wir müssen annehmen, daß wir es hier mit einem physischen, reversiblen Vorgange zu thun haben. Die durch Schwefelsäure vollständig agglutinierten Gläschen haben nach Durchschüttelung wieder ganz dasselbe Aussehen wie vor der Agglutination und geben, ruhig hingestellt, wieder nach demselben Zeitverlaufe dieselbe Flockenbildung und Absetzung der Hefe. Allein die Optimumkonzentration zeigt sich etwas erhöht. Dies ist dadurch zu erklären, daß die Schwefelsäure sich mit den stets aus Hefe diffundierenden Phosphaten zu Sulfat und freier Phosphorsäure umgesetzt hat, und die letztere agglutiniert schwächer.

Die beschriebenen Thatsachen wiesen deutlich darauf hin, daß noch etwas anderes wie der Säuretiter hier im Spiele war, und gleich wurde die Hypothese aufgestellt, daß hier eine Eigenschaft von H-Ionen vorliege. Schwefelsäure und Salzsäure sind in unseren Verdünnungen von $\frac{1}{300}$ normal zu etwa 90 Proz. dissociiert, Essigsäure aber nur zu 15 Proz. Die Aktivität der Säuren war bereits proportional ihrer Dissociation.

Ein einfaches Mittel, dies näher zu prüfen, ergibt sich aus folgender Ueberlegung: Ist wirklich nur der dissociierte Teil der

Säure aktiv, dann soll Beimischung eines Salzes derselben Säure einen in jedem Falle voraus zu bestimmenden Einfluß haben. Wo die Säure Schwefelsäure war, wird das Agglutinationsvermögen wenig oder gar nicht geändert werden. Sind doch hier in den benutzten geringen Konzentrationen Salz und Säure so weit dissociert, daß das Gleichgewicht zwischen H_2SO_4 und seinen Ionen nicht merklich durch die zugefügten SO_4 -Ionen geändert werden kann.

Mit Essigsäure steht die Sache aber ganz anders. Natriumacetat ist in $1/300$ Normallösung zu etwa 90 Proz. dissociert. In einer Lösung, die sowohl $1/300$ Normalnatriumacetat wie $1/300$ Normalessigsäure enthält, wird also die geringe Dissociation der letzteren durch die relativ sehr starke Vermehrung der CH_3CO_2 -Ionen empfindlich zurückgedrängt und damit das Agglutinationsvermögen kleiner gemacht werden.

Das Experiment zeigte sich hiermit völlig im Einklange. Eine zehntelnormale Schwefelsäurelösung, in welcher $2/10$ Normalkaliumsulfat gelöst war, gab keine Verschiebung des Optimumgehaltes oder nur eine von 0,5 ccm zu 0,6 ccm. Die Lösung von $1/10$ Normalessigsäure + $2/10$ Normalnatriumacetat aber gab selbst in Dosen von 2 ccm noch gar keine Agglutination.

Weiter wurde gefunden, daß das Agglutinieren an das Leben der Zellen gebunden ist. 10 Minuten Aufenthalt des Reagenzgläschens mit Hefesuspension und Säure in einem Wasserbade von 58° vernichtete die Fähigkeit zu agglutinieren. Ein gleich langes Verweilen in einem Bade von 57° verzögerte die Flockenbildung nur etwas, und 10 Minuten bei 55° hatten gar keinen Einfluß. Die kritische Temperatur fällt hier also gerade mit der Tötungstemperatur der Hefezelle zusammen.

Ein noch engerer Zusammenhang zwischen dem physiologischen Zustande der Zelle und der spezifischen Wirkung von H-Ionen zeigte sich darin, daß die Art der Stickstoffnahrung, welche der Hefe zur Verfügung gestellt gewesen war, von großem Einflusse auf die Empfindlichkeit der Zellen war. Hefe, gezüchtet in gewöhnlicher Würze, wo der Stickstoff größtenteils in mehr zusammengesetzten Verbindungsformen sich vorfindet, war in den beschriebenen Verhältnissen gar nicht agglutinationsfähig. Um der Hefe diese Eigenschaft zu erteilen, muß man der Würze zuvor Ammonsalze zufügen.

Die Konzentration der Hefe hatte innerhalb ziemlich weiten Grenzen nicht viel Einfluß. Eine 10-proz. Suspension, auf gleiche Weise mit einer Reihe von aufsteigenden Säurequantitäten gemischt, ließ dasselbe Bild sehen wie die 5-proz.

Nicht alle Arten von Hefe verhalten sich aber den H-Ionen gegenüber gleich.

Die Preßhefe No. V aus dem Berliner Institute konnte ich durch Säuren überhaupt nicht deutlich agglutinieren lassen.

Saccharomyces cerevisiae aus Preßhefe, vom Král'schen Laboratorium in Prag bezogen, verhielt sich ganz gleich meiner Reinkultur aus der hiesigen Preßhefe.

Ellipsoideus II (Král) agglutinierte sehr bald, selbst

wenn in gewöhnlicher Würze gewachsen; schneller aber noch, wenn er auch Ammonsalze zur Nahrung erhalten hatte. Der optimale Säuregehalt war wieder nahezu derselbe, er wechselte von 0,4—0,6 ccm $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure in 15 ccm 5-proz. Hefesuspension.

Saccharomyces Pastorianus III (Král) war sehr unvollkommen agglutinierbar, ebenso *Saccharomyces cerevisiae* aus Brennereihefe (Král).

Es scheinen aber noch mehrere physiologische Einflüsse hier ins Spiel zu kommen. Daß weitere Experimente auf vorläufig unerklärte Veränderlichkeiten bei derselben Hefeart hinwiesen, wird hier auch wohl keine Verwunderung erregen.

Die Flockenbildung im Betriebe der Lufthefefabrik hat eine ganz andere Ursache. Der Säuregehalt hat hier gar keinen direkten Einfluß. Man mag den Titer der vergorenen Würze größer oder kleiner machen, die Hefe bleibt wie sie war.

Aus schnell in Flocken sinkender Hefe isolierte ich eine Bakterie, welche sich hier als das wirksame Agens herausstellte.

Eine Preßhefereinkultur setzt sich aus der vergorenen Würze niemals in Flocken ab. War die Flüssigkeit aber auch mit dieser Bakterie infiziert, dann zeigt stets die geformte Hefe die typische flockige Beschaffenheit. Ein hoher Säuregehalt der Würze ist ungünstig und kann die wirksame Entwicklung der Bakterie sehr beeinträchtigen.

Die Säure, durch diese Bakterie selbst erzeugt, ist Milchsäure. Nur eine Spur Essigsäure fand sich daneben vor. Ein halbes Liter Würze, mit 5 g Calciumkarbonat in einen Pasteur-Kolben gebracht, wurde nach Sterilisation mit der Bakterie geimpft und bis zum gänzlichen Verschwinden des Karbonates bei 25—30° gehalten. Mittels Alkohol und Aether wurde dann, nach Versetzung mit der erforderlichen Menge Schwefelsäure, die Säure extrahiert, in das Zinksalz übergeführt und dieses umkrystallisiert. Die typische Krystallform dieses Salzes wurde unter dem Mikroskop deutlich konstatiert. Wasserbestimmung durch 1-stündiges Trocknen bei 160—170° gab 16,4 Proz. Inaktive Milchsäure hätte 18,1 Proz., aktive 12,9 Proz. geben müssen. Die Lösung des Laktates gab hier auch eine merkliche Rechtsdrehung: 0,755 g Zinksalz, in 25 ccm Wasser gelöst + 24' für Na-Licht. Glühung des wasserfreien Salzes gab 33,7 Proz. ZnO. Wasserfreies Zinklaktat läßt bekanntlich 33,3 Proz. ZnO zurück. Wie Pottevin und Péré (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1898. Jan.) nachgewiesen haben, ist diese Formung einer Mischung aktiver und inaktiver Milchsäure in Verhältnissen, die abhängig von der dargebotenen Nahrung sind, allgemein bei vielen Bakterien. Die echten Milchsäurebakterien dagegen sollen nur inaktive Säure geben.

Unter dem Mikroskop zeigt die Bakterie das Bild eines Streptococcus, manchmal auch eines Diplococcus. Die Länge und Breite ist etwa 1 μ und 0,8 μ .

Ein bequemes Mittel zu seiner Auffindung in Preßhefe ist

seine Eigenschaft, auf rohrzuckerhaltiger Würzelatine einen schleimigen Tropfen zu bilden, am besten, wenn die Gelatine auch mit Calciumkarbonat versetzt war. In dieser Beziehung steht Rohrucker ganz allein; Dextrose, Lävulose, Maltose, Raffinose, Laktose lassen die Bakterie sich nur zu einer unansehnlichen trockenen Kolonie entwickeln.

Die beschriebenen Eigenschaften zusammengenommen, das mikroskopische Bild, die Milchsäureproduktion und die Schleimbildung bei Gegenwart von Rohrucker, würden dazu führen, diese Bakterie mit dem *Leuconostoc mesenterioides* zu identifizieren. Wenn man aber auf rohrzuckerhaltiger Würzelatine eine Oberflächenkultur von Preßhefe darstellt, haben nicht alle zur schleimigen Kolonie entwickelten Bakterien die agglutinierende Wirkung auf Hefe. Das mikroskopische Bild aller dieser Bakterien ist zwar einander und dem des *Leuconostoc mesenterioides* sehr ähnlich. Die letztgenannte, von Král erhaltene, konnte aber weder Hefe agglutinieren, noch Schleim aus Rohrucker bilden. Die Bakterie, welche Hefe agglutinierte, behielt diese Eigenschaft auch nach wiederholtem Ueberimpfen in verschiedenes Nährmaterial.

Wir haben es hier also wahrscheinlich mit mehreren Varietäten nahe verwandter Arten zu thun und in Bezug auf die Aehnlichkeit mit *Leuconostoc mesenterioides* und die spezifische Wirkung auf Hefe möchte ich vorläufig für diese Bakterie den Namen *Leuconostoc agglutinans* vorschlagen.

Die Flockenbildung von Hefe in der Technik ist also aufzufassen als ein Zusammenkleben der Zellen mittels des von *Leuconostoc agglutinans* erzeugten Schleimes.

Nachdruck verboten.

Botanische Beschreibung einiger Bodenbakterien.

Beiträge zur Methode der Speciesbestimmung und Vorarbeit für die Entscheidung der Frage nach der Bedeutung der Bodenbakterien für die Landwirtschaft.

Von Dr. O. Gottheil.

Mit 4 Tafeln.

(Fortsetzung.)

In dem Folgenden will ich, unter Anlehnung an die bereits von Flüggé mitgetheilten Beschreibungen des Gelatinestichs u. s. w., eine möglichst vollständige Beschreibung von *Bacillus mycoides* geben.

Gelatineplattenkultur. In Gelatineplatten entstehen weiße Trübungen, in denen weißliche feine Fäden von unregelmäßigem, wirrem, verästeltem Verlauf hervortreten. Dieses Netzwerk von Fäden erreicht nach 12—20 Stunden bereits eine Ausdehnung von ca. 10 mm und erinnert so sehr an ein Pilzmycel, daß man zweifelhaft sein kann, ob ein solches oder eine Spaltpilz-

kolonie vorliegt. Die Fäden bleiben zart und fein, so lange sie in der Tiefe der Gelatine liegen, verbreiten sich bedeutend und verlieren die scharfe Begrenzung, sowie sie an die Oberfläche gedrunken sind. Es sind meistens nur wenige Oberflächenkolonien vorhanden, welche ebenfalls aussehen wie weiße Punkte, von welchen in unzählbarer Menge nach allen Seiten hin feine hyphenähnliche Fäden auslaufen. Bald treten die einzelnen Kolonien durch solches Fäden-gewirr in Verbindung.

Mikroskopisch erkennt man die Zusammensetzung solcher Bündel aus Zellfäden, die meist locker nebeneinander liegen, zuweilen aber dicht verfilzt sind und im ganzen einen vielfach gekrümmten und gewundenen Verlauf zeigen. Die Stäbe dieser ein- und mehrstäbigen Zellfäden sind 50- bis 150-lang und scheinen einzellig zu sein; untersucht man sie jedoch mit Chlorzinkjod, so erkennt man, daß die Stäbe meistens 50- bis 150-zellig sind. Mit dem Durchbrechen der Fäden an der Oberfläche tritt gleichzeitig Verflüssigung der durch die Ausbreitung der Kolonien diffus getrübbten obersten Schicht ein. Nach mehreren Tagen ist die Gelatineplatte von einer fest zusammenhängenden Haut bedeckt. Schwärmer waren nicht nachweisbar. Gelatinestichkultur. Im Gelatinestich findet man nach einigen Tagen längs des Stichs feinste Härchen, welche in dichter Reihe in die Gelatine vordringen. Eine dicke Haut entwickelt sich auf der Oberfläche der Gelatine und nach 2—3 Wochen ist meist, bei normaler, relativ fester Gelatine, die Verflüssigung der Gelatine in einer Höhe von 1—2 cm eingetreten. Die Haut hat sich zusammengeballt und ist hinabgesunken; die verflüssigte Gelatine ist vollständig klar. Der feine Härchenwuchs war in Kulturen, welche 4 Wochen alt und älter waren, noch deutlich vorhanden. Die Gelatine wurde langsam cylinderförmig weiter verflüssigt. Nach 2 Jahren stellte ich nochmals eine Gelatinestichkultur mit dem gleichen Materiale her und fand, daß eine Verflüssigung der Gelatine ausblieb. Agarstrichkultur. Auf Agar wächst der *Bacillus* ebenfalls in Gestalt eines schnell sich ausbreitenden, wurzelartigen Geflechts; nach 20—24 Stunden ist die Kolonie rauh, feinrunzlig, später wird sie dicker, feucht und grauweiß. Die Ausläufer sind dann fast nur noch an der Peripherie zu erkennen. Nach mehreren Tagen sind in den Agar fadenförmige Strahlen hineingewachsen. Agarstichkultur. Die Oberfläche der Agarsäule wird nach mehreren Tagen gelblich-weiß, saftig glänzend, runzlig. Längs des Stichs dringen Härchen in den Agar ein. Wachstum auf steriler Möhrenscheibe. *Bacillus mycoides* wächst auf der Möhre schlecht. Langsam findet eine Entwicklung statt. Es wurde ein trockner, körniger, dicker, weißlicher Belag gebildet. Kartoffelkultur. Auf Kartoffeln entstand langsam eine weißliche, körnige oder mehr homogene Auflagerung. Entwicklungsgang von *Bacillus mycoides* auf Dextroseagar. Die Sporen sind ellipsoidisch und länglich-walzenförmig; $0,83 \mu$ breit, $1,4-2,2 \mu$ lang (Fig. A a, b, c, d, e); wenige besitzen schwache Spitzen wie in Fig. A b. Am besten gelingt die Beobachtung der Sporenformen mit Hilfe von Chlorzinkjodlösung; die Sporenmembran ist ohne Reagens nicht zu erkennen,

erst nach Durchfärbung mit Fuchsinlösung tritt sie deutlich hervor; Exine und Intine sind (mit Immersion Zeiß $1/12$, Ap. 1,3) nicht zu unterscheiden. Als charakteristisch kann die Erscheinung gelten, daß die reifen Sporen meistens noch von den Sporangienmembranen umgeben sind (Fig. B a, b, c). Nach ungefähr 5 Stunden keimen die Sporen auf Agar; sie schwellen stark an und keimen polar; häufig haften die Sporangienmembranen noch als Anhängsel an den Sporenmembranen fest, wie in Fig. D a, b, c. Die Keimstäbchen werden ungefähr $1,11 \mu$ breit und bis 3-, 4-, seltener mehr lang (Fig. C a, b, c, d, D a, b, c, T). Bald nach der Keimung beginnen die Stäbchen mehr oder weniger lange Zellfäden auszubilden, und so findet man in ungefähr 6-stündigem Agarmaterial häufig 10- und mehr lange Zellfäden, an welchen noch Sporenmembranen anhaften. Diese Zellfäden erscheinen ohne Reagens einzellig, mit Methylenblau (Fig. E c) und besser noch mit Chlorzinkjod (Fig. T) vielzellig; Vakuolen waren in diesen Zellen (Methylenblaureaktion) meistens noch nicht ausgebildet, sie erschienen vollständig gleichmäßig homogen. Ein Schwärmzustand dieser Stäbchen, wie auch der Stäbchen älteren Stadiums war niemals vorhanden. Ich untersuchte die Keimungen zur Entscheidung der Frage, ob Schwärmer entwickelt werden, noch mit negativem Erfolge, auch in Nährlösung in der feuchten Kammer. Eine 17- bis 20-stündige Kolonie ist glasig, durchsichtig, wellig, glänzend; nach den Rändern zu erkennt man feine fadenförmige Ausläufer. Untersuchen wir zuerst die Stäbchen aus dem Kondenswasser oder von der Agarfläche ohne Chlorzinkjod, nur mit Hilfe von Methylenblaulösung, so finden wir meistens ein- und 6-stäbige Zellfäden, deren Stäbe einzellig, 1- bis 10- und mehr lang, wie auch 1- bis 10- und mehr-zellig sind (Fig. G a, b); weniger Einzel- und Doppelstäbchen (Fig. F a, b, c, G a) und 10- bis 20-stäbige Zellfäden, deren Stäbchen bis 4- lang sind. Die Stäbchen sind an den Polen meistens fast gerade abgeschnitten („eckig“) und noch vollständig homogen. Setzt man diesem Stäbchenmaterial etwas Chlorzinkjodlösung zu, so erkennt man, daß in den meisten mehrlangen Stäbchen bereits Septen angelegt sind (Fig. K). Das Plasma wird durch Chlorzinkjodlösung gelblich gefärbt, kontrahiert sich etwas und die Scheidewände treten (mit Immersion Zeiß $1/12$, Ap.) meistens nur als stärker lichtbrechende Streifen wie in Fig. K hervor; nur bei scharfer Beobachtung gelingt es ab und zu die Membranen zu erkennen. Dadurch, daß die Stäbe der mehrstäbigen Zellfäden sich nicht deutlich abrunden, sondern fast eckig (Fig. G, S) bleiben, scheinen nach Zusatz von Chlorzinkjodlösung oft 40- bis 100-zellige einstäbige Zellfäden vorzukommen. Nach 30—40 Stunden sieht die Kolonie matt-glänzend, in der Nähe des Kondenswassers deutlich häutig aus und ist jetzt fein fadenförmig in die Agarschicht hineingewachsen. Beobachtet man die Kolonie mit der Lupe, so erkennt man eine wellige Oberfläche und nach den Rändern zu mycelartige Ausläufer. Im Kondenswasser findet man nur vereinzelte Einzel- und Doppelstäbchen, vorherrschend lange Zellfäden, von denen viele oft etwas spiralig gewunden sind; sehr viele Stäbchen waren noch homogen oder hatten nur wenige Fetttropfen gespeichert; wenige Stäbchen waren mit vielen kleinen Fetttropfen angefüllt,

wie in Fig. L. Die Stäbe waren unbeweglich 2-, 3- bis 10-zellig (Chlorzinkjod). Im oberen Teile der Agarkolonie waren außer Einzel- und Doppelstäbchen meistens bis 50-, seltener mehrstäbige Zellfäden entwickelt, deren Stäbe meist 1- bis mehr-lang, entweder homogen oder mit relativ wenigen Fetttröpfchen angefüllt waren. Nach ungefähr 40 Stunden sind bei normaler Entwicklung schon Sporangien ausgebildet; welche Zellfäden vorstellen, die häufig einstäbig sind und aus 3- bis 50-einlangen Sporangien bestehen (Fig. I, P). Die Sporen werden selbstverständlich in allen Zellen eines Zellfadens nicht immer zu ein und derselben Zeit ausgebildet, und so findet man in vielen bis 6- langen Stäben, welche in Wasser oder verdünnter Methylenblaulösung oft einzellig erscheinen, beispielsweise nur eine Spore ausgebildet (Fig. H); zu beachten ist aber, daß diese bis 6-langen Stäbe auch bereits bis 6-zellig sind (Chlorzinkjod). Nach ungefähr 64 Stunden ist die Kolonie fast vollständig homogen, dick, gelblich-weiß. Im Kondenswasser findet man mehrstäbige Zellfäden, deren Stäbe bis über 100-zellig sind (Chlorzinkjod), mitten in der Agarkolonie auch sehr lange Zellfäden mit wenigen Sporen, während im oberen Teile der Kolonie vorherrschend ein- bis 8-stäbige Zellfäden, deren Stäbe aus 2-, 4- bis 20-einlangen Sporangien bestehen, und wenige vielstäbige Zellfäden mit aus einem Sporangium bestehenden Stäbchen (Fig. P, O) zu finden sind. Nach 88 Stunden sind größtenteils vielstäbige Zellfäden mit aus einem Sporangium bestehenden Stäbchen und Einzel- und Doppelsporangien entwickelt (Fig. O). Die reifen Sporangien sind fast stets vollständig fettfrei, stark angeschwollen (Fig. M a, b, N a, b); die Sporen werden in denselben mittel- und endständig ausgebildet.

Mit Agarmaterial des verschiedensten Alters fertigte ich sehr viele Geißelfärbungen an, ehe es mir gelang, Geißeln mit Sicherheit nachzuweisen. An manchen Stäbchen konnte man dann Reste von Geißeln erkennen, wie in Fig. Q a, b, c; nur ein Präparat zeigte mir deutlich die peritriche Begeißelung der Stäbchen. An einem einlangen Stäbchen werden 3 bis 6 Geißeln ausgebildet (Fig. R a, b, c). Die Geißeln liegen alle gleichmäßig nach der Seite zu, nach welcher mit der Platinnadel der Ausstrich der Bakterien auf das Deckgläschen erfolgt ist; es hatte anscheinend vor dem Fixieren keine lebhafte Bewegung der Geißeln stattgefunden. Auf Agar ohne Dextrose behält die Kolonie länger den mycelartigen Ausläuferwuchs. Die Zellfäden zerfallen schneller, und die Sporenbildung geht langsamer und nicht so normal von statten.

Entwicklungsgang in Nährlösung. Die Sporen von *Bacillus mycoides* keimen gut in Nährlösung III (Pepton 1,0, mineralische Lösung 100). Bei vollständiger Ruhe wird eine dünne Kahnhaut entwickelt. Die Haut fällt leicht ab und man findet dann meist nach 4 bis 5 Tagen bei 28° in der sonst klaren Flüssigkeit eine Haut flottieren. Schüttelt man die Lösung um, so zerfällt die lockere Haut und die Flüssigkeit erscheint von Fäden durchsetzt. Diese Haut besteht aus langen ein- und mehrstäbigen Zellfäden, deren Stäbe bis 100- und 150-zellig werden können (Chlorzinkjod).

Besser als im Reagensglase geht die Entwicklung im Kölb-

chen vor sich. Die Kahlhautbildung ist stärker; Schwärmer habe ich nicht beobachten können. Nach 6—8 Tagen bei 28° sind normale Sporangien ausgebildet. In einer mehrere Wochen alten Kultur findet man außer normalen, gesunden, langen Zellfäden auch viele abgestorbene Fäden. Schleimbildung ist nicht vorhanden.

Wachstum in den verschiedenen Nährlösungen. Nach 4-wöchentlicher Entwicklung bei 28°. Nährlösung O. I + Marmor. Dicke, fest zusammenhängende, glänzende Kahlhaut, welche aus langen Zellfäden gebildet wird, wie ich dieselben auf Agar gefunden hatte. Die Lösung ist klar. Der Bodensatz besteht meistens aus Sporen. Schwärmer wurden nicht entwickelt. Die Bakterien hatten meistens Fett gespeichert. I. Kahlhaut wird gebildet, die Lösung ist nach dem Umschütteln trübe, flockig, dick. Keine Schwärmer. II. Entwicklung; die Wachstumsintensität in dieser Lösung schwankt. III. Lösung trübe; die gebildete Kahlhaut war abgefallen, daher war die Lösung flockig; viele Involutionsformen. IV. Ganz schwache Opalescenz, dünne Involutionsformen. V, V_α, V_β, V_γ und VI. In den ersten Wochen ist absolut keine Entwicklung vorhanden, nach 4 Wochen und noch besser nach 6 Tagen sind diese Lösungen getrübt; Entwicklung ist kaum zu konstatieren. Involutionsformen. V_δ, VII, VIII, IX, X, XI. Keine Entwicklung.

Intensitätstabelle.

0	I	I + Marmor	II	III	IV	V	V _α	V _β	V _γ	V _δ	VI	VII	VIII	IX	X	XI
4	4	4	2	3	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0

Alkalibildung. Indikator: Dimethylamidoazobenzol. 10 ccm Nährlösung III = 0,8 ccm $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure, 10 ccm nach 4-wöchentlicher Entwicklung bei 28° und 14 Tagen bei Zimmertemperatur = 4,9 ccm $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure. Alkalibildung in 10 ccm = 4,1 ccm Normalschwefelsäure. Diastasebildung ist in Nährlösung III gar nicht, in Nährlösung V_α kaum vorhanden. Gasbildung findet nicht statt.

Verschiedene der in der Litteratur vorliegenden kurzen Bakterienbeschreibungen, wie z. B. die von *Bac. ramosus* Frankland, *Wurzelbacillus* Fränkel, *Bac. radicosus* und *Bac. implexus* Zimmermann stimmen fast vollständig, bis auf die Angaben der Beweglichkeit der Bakterien mit *Bacillus mycoides* Flügge überein. Ich selbst habe nun 3 verschiedene *Mycoides*-Kulturen durchgearbeitet, um über die Schwärmerbildung bei dieser Species Klarheit zu erhalten: 1) Eine Kultur, die Herr Prof. Flügge mir zur Verfügung gestellt hatte. 2) Eine Kultur, welche ich von Král bezogen hatte. 3) Eine Kultur, welche ich aus der von Herrn Rittergutsbesitzer Caron übersandten Kultur des *Alinitbacillus* isoliert hatte. Alle diese 3 verschiedenen Kulturen bildeten, sowohl auf Agar mit und ohne Dextrose, wie auch in den Nährlösungen I, I + Marmor, II und III bei 28° keine schwärmenden Stäbchen aus. Bei genauer Beobachtung schienen öfters einige Kurzstäbchen langsame Eigenbewegung, Drehbewegung, auszuführen. Ich versuchte auch auf die Weise Schwärmer zu erzielen, daß ich den Spaltpilz in reinem Fleischwasser kultivierte, und auch dadurch, daß ich ihn einmal in Nährlösung I einer Temperatur von ungefähr 0 bis 4°, ein anderes Mal eine Kultur einer Temperatur von 40° aussetzte. Auf Agar keimten übrigens die Sporen bei 40° nicht. Leider ist es mir nicht gelungen, Schwärmzustände zu erhalten. Da *Bacillus mycoides* Geißeln besitzt, aber wie es aus meinen Versuchen hervorgeht, nicht leicht zum Schwärmen zu bringen ist,

so ist es erklärlich, daß die verschiedenen Autoren, welche aller Wahrscheinlichkeit nach diese Species in den Händen hatten, verschiedenes über die Schwärmfähigkeit aussagen konnten.

Wichtigste Merkmale der Species
„*Bacillus mycoides*“.

Spore. Sporengröße: $0,83 \mu$ breit, $1,4-2,2 \mu$ lang. Sporenform: Fig. A a, b, c, d, e. Sporangienmembranen bleiben lange erhalten; diese sowohl wie auch die Sporenmembranen werden nach Durchfärbung mit Fuchsin gut sichtbar (Fig. B a, b, c); ohne Reagentien ist die Sporenmembran nicht zu erkennen; Exine und Intine sind nicht zu unterscheiden. Relativ starke Anschwellung der Sporen vor der Keimung; letztere erfolgt polar (Fig. C a, b, c, d). Charakteristisch ist die Erscheinung, daß bei der Keimung an den Sporenmembranen meistens noch die Sporangienmembranen (Fig. D a, b, c) festhaften. Die Keimstäbchen werden bis 4- lang, seltener länger; ihre Breite beträgt $1,11 \mu$. Mit Methyleneblau 1:40 schwach durchfärbt, erscheinen die Keimstäbchen fast vollständig homogen, also vakuolenfrei. Auf Agar sind nach ungefähr 17 Stunden meistens 1- und 6-stäbige Zellfäden vorhanden, deren Stäbe meistens 1- bis 10-, doch auch noch mehrzellig sind (Fig. G, K) (Chlorzinkjod), doch es kommen auch Einzel- und Doppelstäbchen (Fig. F a, b, c, E und G a) und 10- bis 20-stäbige Zellfäden vor, deren Stäbe 2- bis 4-zellig sind (Chlorzinkjod). Die Stäbchen sind an den Polen meistens fast gerade abgeschnitten, „eckig“, noch vollständig homogen und $1,39 \mu$ breit. Langsame Eigenbewegung der Stäbchen kann stattfinden. Die Geißelfärbung ist schwer ausführbar (Fig. Q a, b, c). Die Begeißelung ist peritrich (Fig. R a, b, c). Die Länge der Stäbe nimmt zu, so daß nach ungefähr 40 Stunden mehrstäbige Zellfäden vorhanden sind, deren Stäbe zum Teil Fetttropfchen gespeichert haben (Fig. S, L) und 50- und mehrzellig sind (Chlorzinkjod); im oberen Teile der Kolonie sind schon wenige Sporangien ausgebildet. Nach 64 Stunden auf Agar bei 28° sind im oberen Teile der Kolonie auf der Agarfläche fast nur Sporangien vorhanden, welche meist zu Zellfäden vereinigt sind, die 1-, seltener bis 8-stäbig sind und deren Stäbe aus 2, 4, bis 20 einlangen Sporangien bestehen (Fig. I). Nach mehreren Tagen beginnen die Sporangien anzuschwellen, sich abzurunden und vielstäbige Zellfäden mit aus einem Sporangium bestehenden Stäbchen und Einzel- und Doppelsporangien (Fig. P, O, M, N) auszubilden. Die Intensität des Wuchses in den Nährlösungen III, I und O = 3-4, und V, Va, Vb, Vy, Vd, VI, VII, X = 0-1 ist charakteristisch. Gelatineplattenkultur: In Gelatineplatten entstehen weiße Trübungen, in denen feine weiße Fäden von unregelmäßigem, wirrem, verästeltem Verlauf hervortreten. Die jungen Kolonien sehen aus wie junge Pilzmycelien. Nach mehreren Tagen ist die ganze Gelatineplatte von einer fest zusammenhängenden Haut bedeckt. Gelatinestichkultur: Im Gelatinestich findet man nach einigen Tagen längs des Stiches feinste Härchen in dichter Reihe in die Gelatine vordringen. Agarstrichkultur: Auf Agar bei 28° wächst der *Bacillus*

ebenfalls in Gestalt eines schnell sich ausbreitenden, wurzelartigen (mycelartigen) Geflechts. Nach mehreren Tagen bei 28° sind Fäden in den Agar hineingewachsen. Möhrenkultur: *Bac. mycoides* wächst auf der Möhre schlecht. Nach Wochen ist ein trockener, körniger, dicker Belag entwickelt, welcher aus meistens abgestorbenen Stäbchen besteht. Alkalibildung findet in Nährlösung III statt. Diastasebildung ist in Nährlösung III nicht vorhanden, in Nährlösung Va, welche 4 Wochen bei 28° und 6 Wochen bei Zimmertemperatur gestanden hatte, war schwache Diastasebildung nachweisbar. Gasbildung findet nicht statt. Die Gelatine wird meistens relativ langsam verflüssigt.

Bacillus subtilis Cohn (Fig. IX).

Litteratur: Cohn. 1876. Prazmowski. 1880. Brefeld. 1878, 1881. Fischer. 1895. Schreiber. 1896. Grethe. 1897. Arthur Meyer. 1899. Migula. 1000.

Die Durcharbeitung des *Bacillus subtilis*, welchen Herr Prof. Meyer aus Heuinfus isoliert und für seine Arbeit (1899) benutzt hatte, wurde für mich deshalb notwendig, weil ich von *Beta lutea* etc. eine Bakterienart isoliert hatte, welche in ihrer Morphologie und Entwicklungsgeschichte diesem *Bac. subtilis* glich, in den kulturellen Wuchsformen, wie auch in den Nährlösungen dagegen abweichende Eigenschaften zeigte. Da es mir nach öfterem Umzüchten schließlich gelungen ist, diese abweichenden Formen in die des normalen *Bac. subtilis* überzuführen, so muß ich diese Species als eine Varietät des *Bac. subtilis* ansehen und will sie als *Bac. subtilis* α bezeichnen. Ich beginne mit einer kurzen Beschreibung des aus Heuinfus gezüchteten *Bac. subtilis*, dessen genauere Diagnose eventuell in der Litteratur nachzusehen ist; meine Untersuchung und Beschreibung soll nur zur direkten Vergleichung des *Bac. subtilis* α mit der Normalform dienen.

Gelatineplattenkultur. Nach ungefähr 2 Tagen sind kleine weißliche, rundliche Kolonien entwickelt, dieselben sinken schalenförmig ein und erscheinen bei mikroskopischer Betrachtung rundlich, glattrandig gelblich, zuweilen mit schwachem Haarkranz. Später wurden, namentlich bei den oberflächlich gelegenen Kolonien, die Randpartien wellig; bei fortschreitender Verflüssigung der Gelatine lösten sie sich in unzählige verworrene Locken auf. **Gelatinestichkultur.** Auf der Oberfläche wurde ein weißlicher Belag entwickelt, welcher bald die Gelatine schalenförmig verflüssigte; nach 10 Tagen war dieselbe 1,5 cm hoch verflüssigt, sie war flockig-trübe. Langsam schreitet die Verflüssigung der Gelatine fort; die Kolonie im Stich entwickelt sich ungefähr bis 1 cm tief, und auf der Oberfläche der verflüssigten Gelatine wird bei ruhigem Stehen der Kultur eine weißliche Kahlhaut gebildet. **Agarstrichkultur.** Nach ungefähr 16—20 Stunden ist eine feine grau-weißliche, häutige, dünne, nicht schleimige Kolonie entwickelt; nach 3—5 Tagen war dieselbe auch relativ dünn, weißlich, matt, häutig, der obere Teil war schwach glänzend; nach 9 Tagen war sie dünn, häutig, schwach glänzend; nach 12 Tagen weiß,

gleichmäßig glänzend. Eine 3 Wochen alte Agarkolonie war sehr dünn, durchsichtig, weißlich. Wachstum auf steriler Möhrenscheibe. Nach 4 Tagen war eine glänzende, glasige, homogene, aus lebhaften Schwärmern bestehende Kolonie entwickelt. Nach ungefähr 5 Tagen begann dieselbe häutig zu werden; nach 9—12 Tagen war sie relativ dick, weiß, rauh, häutig-zusammenhängend und fein runzlig. Nach ungefähr 15 Tagen war die Kolonie runzlig, stark leistenförmig oder schlangenartig gewunden und stets weißlich.

Entwicklungsgang von *Bacillus subtilis* auf Dextroseagar. Die Sporen sind meistens länglich wie Fig. A a, b, c, d, selten wie Fig. A g oder ellipsoidisch wie Fig. A e, f; sie sind $0,83-0,94 \mu$ breit, $1,7-1,9 \mu$ lang. Ihre Sporenmembran, welche an den Polen dicker ist als an den Längsseiten, wird (bei Beobachtung mit Immersion Zeiß $1\frac{1}{2}$, Ap. 1,3) meistens erst nach Durchfärbung mit Methylenblau- oder Fuchsinlösung sichtbar; mit Chlorzinkjodlösung sind an wenigen Sporen ganz schwache „Ecken“ zu erkennen (Fig. A a). Im optischen Querschnitt erscheinen die Sporen rund (Fig. B). Wie ja allgemein bekannt, halten die Sporen von *Bacillus subtilis* ein $\frac{1}{2}$ -1-stündiges Kochen aus, ohne daß ihre Keimfähigkeit darunter leidet; häufig fand ich, daß die Stäbchen einer 14-stündigen Agarkolonie, welche aus Sporen, die $\frac{1}{2}$ Stunde lang abgekocht wurden, hervorgegangen waren, anormalerweise nicht schwärmten, erst später, nach einiger Zeit der Weiterentwicklung, waren normale Schwärmer vorhanden. Die Sporen keimen auf dem Agar nach 5—6 Stunden: sie schwellen vor der Keimung nur wenig an (Fig. C). Man findet: 1) vorherrschend seitliche, äquatoriale Keimung, also einseitiges Aufreißen der Membran und dabei Keimung mit Kurzstäbchen (Fig. D a, b, c, d, e, f, E); 2) seitliche äquatoriale Keimung, dabei schnelles Wachstum des Keimstäbchens innerhalb der sich nicht gleichmäßig mit ausdehnenden Sporenmembran und so Keimung mit längerem, kommaförmig gekrümmtem Stäbchen (Fig. F a, b, c); 3) äquatoriales, ringförmiges Aufreißen der Sporenmembran, dabei Streckung des Keimstäbchens und Haften der Sporenmembran als Kappen an den Polen desselben (Fig. G a, b, H). Mit Methylenblaulösung 1:40 erkennt man in den Keimstäbchen, die normalerweise bis 2-lang und ungefähr $0,83 \mu$ breit werden, feine Vakuolen (Fig. H). Bald nach der Keimung beginnen die Stäbchen zu schwärmen, wobei öfters noch die Sporenmembran an ihnen haftet. Nach ungefähr 6—20 Stunden findet man in der Agarkolonie meistens lebhaft homogene Einzel- und Doppelschwärmer, welche 1- bis 2-lang und $0,83-0,94$ breit sind (Fig. I und K a, b, c, d, e, f, g, h). Die Kahnhaut, welche auf dem Kondenswasser nach ungefähr 12—15 Stunden entwickelt ist, besteht aus schlangenartig gewundenen, vielstäbigen Zellfäden. Die Energie der Fortbewegung ist bei dem *Bac. subtilis* außerordentlich groß; die Schwärmer bleiben selbst nach schwacher Durchfärbung mit Methylenblaulösung noch relativ lange in Schwärmtätigkeit. Nach 40 Stunden findet man im Kondenswasser meistens Einzel- und Doppelschwärmer, nur wenige Ruhestäbchen und Sporangien; auf der Agarfläche Ruhestäbchen und wenige Sporangien. Nach 3—4 Tagen sind auf der

Agarfläche Einzel- und Doppelsporangien mit end- und mittelständigen Sporen entwickelt. Die Sporangien können die normale Stäbchenbreite beibehalten (Fig. L a, b, c, d), wie auch bauchig anschwellen und sich etwas abrunden (Fig. M a, b, c, d, e, f). An den nach Loeffler gefärbten Schwärmern erkennt man ungefähr 6—8 peritrich angelegte Geißeln, welche $1\frac{1}{2}$ - bis 2mal so lang sind als ein einlanges Stäbchen (Fig. P, O).

Kurze Angaben über die Entwicklung von *Bacillus subtilis* X (Asparagin 1,0, Dextrose 3,0, mineralische Nährlösung 100). Nach dem Impfen mit Sporen und Abkochen der Lösung findet man nach 3 Tagen bei 28° eine weiße, runzlige Kahlhaut entwickelt. Die in der Kahlhaut befindlichen Stäbchen zeigen mit Jodlösung nach 3—4 Tagen, also kurz vor der Sporenbildung, die von Herrn Prof. Meyer zuerst beschriebene Glykogenreaktion (Fig. VIII, N a, b). Nach mehreren Wochen ist die Lösung klar, braun gefärbt und mit einer bräunlichen Kahlhaut bedeckt.

Wachstum in den verschiedenen Nährlösungen. 1) Nach 7 Tagen bei 28°. Nährlösung 0 und I + Marmor. Lösung trübe, Bodensatz und dünne Kahlhaut. I. Sehr schwache Entwicklung, Lösung opalesciert schwach, normale Schwärmer und Ruhestäbchen; nach längerer Kultivierung auf Agar mit 1 Proz. Dextrose gute Entwicklung, Kahlhautbildung. II. Sehr starke Entwicklung, Lösung trübe, Bodensatz, dicke weiße Kahlhaut. III. Lösung fast klar, ganz dünnes Häutchen. IV. Lösung opalesciert schwach, wenige Schwärmer. V. Lösung klar, Bodensatz, Kahlhaut. V₁. Lösung trübe, Bodensatz, dünne Kahlhaut. V₂. Lösung trübe, Bodensatz, dicke, weiße Kahlhaut. V₃. Lösung klar, Kahlhaut. V₄. Lösung klar, Bodensatz und Kahlhaut. VI. Lösung milchig, trübe. VII. Lösung trübe. VIII, IX, XI. Keine Entwicklung. X. Lösung klar; Kahlhaut, am Rande letztere etwas gebräunt. 2) Nach 14 Tagen bei 28° und 14 Tagen bei Zimmertemperatur. Nährlösung 0. Lösung trübe-flockig; weiße Kahlhaut, welche sich am Rande des Glases fest angesetzt hat. Farbe der Lösung gelb, unverändert. I. Lösung schwach opaleszierend, fast unentwickelt, nach längerer Kultivierung auf Agar mit 1 Proz. Dextrose gute Entwicklung. I + Marmor. Lösung klar, Kahlhaut. II. Sehr starke Entwicklung, Lösung dick, trübe, Bodensatz, Kahlhaut. III. Fast unentwickelt. IV. Fast unentwickelt. V. Lösung braun, etwas Bodensatz, fest zusammenhängende bräunliche Kahlhaut. V₁. Lösung trübe, gelblich, schwach flockig. V₂. Lösung gelb, Bodensatz und Kahlhaut. V₃. Entwicklung, Haut flockig, abschüttelbar. V₄. Lösung gelb, Kahlhaut flockig, abschüttelbar. VI. Keine Kahlhaut, Lösung nach Umschütteln trübe, milchig. VII. Lösung trübe. VIII, IX, XI. Keine Entwicklung. X. Lösung klar braun, braune Kahlhaut.

Intensitätstabelle.

0	I	I + Marmor	II	III	IV	V	V ₁	V ₂	V ₃	V ₄	V ₅	VI	VII	VIII	IX	X	XI
3	1-3	2	4	-1	-1	3	2	3	2	2	3	2	0	0	3	0	

Alkalibildung. Indikator: Dimethylamidoazobenzol. 10 ccm Nährlösung X = 0,4 ccm $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure 10 ccm, nach 4-wöchentlicher Entwicklung bei 28° = 9,4 ccm $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure. Alkalibildung in 1,0 ccm = 9 ccm $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure. Nitritbildung ist (in Nährlösung VII und in Nährlösung II + 0,4 Proc. Kaliumnitrat) vorhanden. Starke Diastasebildung (untersucht in Nährlösung X und I) findet statt. Gasbildung findet nicht statt.

Bacillus subtilis α.

Möglicherweise synonym: *Bacillus armoraciae* Burchard, *Bacillus idosus* Burchard (Beiträge zur Morph. u. Entwicklung der Bakt. Arbeiten

aus dem bakt. Institut der techn. Hochschule zu Karlsruhe. 1898. *Bacillus mesentericus* Flügge o (Flügge, Mikroorganismen. 2. Aufl. 96).

Aderhold scheint bereits *Bacillus subtilis* α beobachtet zu haben. In der Arbeit: „Untersuchungen über das Einsäuern von Früchten und Gemüsen“, 1899 sagt Aderhold p. 113 folgendes:

„Neben den *Fluorescentes* wurde endlich mehrere Male in Reif- und Jungsäuerungen der Heubacillus *Bacillus subtilis* F. Cohn angetroffen. Er stellte in Gurkensäften ein 3- bis 4-mal so langes wie dickes, etwa 2 bis $3,5 \times 0,8$ bis $1,2 \mu$ messendes Stäbchen dar, das einzeln oder zu zweien oder zu Bakulis vereint auftrat, lebhaft beweglich war und sowohl in Strichkulturen, wie auf der Kartoffel leicht Sporen bildete. Die Kolonien waren rund, begannen sehr schnell zu verflüssigen und sanken dann napfförmig ein. Im Stich fand nur in der oberen Stüchhälfte Wachstum statt. Die Verflüssigung begann schüsselförmig und schritt dann durch die ganze Breite des Reagensglases cylindrisch fort. Auf der flüssigen Schicht bildete sich eine dicke, weiße Haut. Dieselbe schließlich mehlig, weißgraue Haut kam auch auf der breiten Verflüssigungszone der Strichkultur zustande. Der Kartoffelbelag war in allen meinen Kulturen gelblich, dick, eben oder etwas grubig faltig, unterschied sich also ein wenig von der normalen (weißen) Form. In Flüssigkeitskulturen war starke Haut- und Ringbildung charakteristisch.“

Diese Varietät α von *Bacillus subtilis*, welche ich auf *Beta vulgaris altissima*, *Beta vulgaris lutea* und *Brassica oleracea gongyloides* gefunden hatte, unterscheidet sich von *Bacillus subtilis*: 1) Durch die dicke, schmutzig-bräunliche, nicht starke leistenbildende Kolonie auf steriler Möhrenscheibe:

Nach ungefähr 4 Tagen war die Möhrenscheibe von 3 cm Durchmesser von einer relativ dicken, rauhen, runzligen häutigen, nach 9—14 Tagen bräunlich, wellig werdenden Kolonie bedeckt. Nach mehreren Wochen sah letztere graubraun und gleichmäßig homogen, also nicht faltig, aus.

Um nun mit Sicherheit festzustellen, daß nicht etwa diese verschiedenartigen Koloniebildungen des *Bac. subtilis* und *Bac. subtilis* α , von einer Inkonstanz der Nährböden herrührten, teilte ich eine Möhrenscheibe in gleiche Teile, sterilisierte sie und impfte dann die eine Hälfte der Möhrenscheibe mit Sporen von *Bac. subtilis*, die andere mit Sporen von *Bac. subtilis* α . Diese so nun gleichmäßig geimpften Möhretheile verhielten sich so verschieden, wie vorher angegeben. Ähnliche Unterschiede zeigten auch auf Kartoffel gezüchtete Kolonien.

2) Durch die dicke, schmutzig-bräunliche, stark schleimige Agarstrichkultur: Nach ungefähr 15—20 Stunden war eine rauhe, grauweiße, im oberen Teile der Agarfläche schwach glänzende, schleimige Kolonie entwickelt, welche nach 40 Stunden weiter glänzend schleimig wurde; nach ungefähr 8 Tagen war dieselbe relativ dick, schmutzig-bräunlich. Nach mehreren Wochen war die Kolonie äußerst dick, schmutzig-braun. Auch hier habe ich auf gleichem Agar vergleichsweise *Bacillus subtilis* untersucht und dieselbe weiße Koloniebildung erhalten, wie ich sie oben beschrieben habe.

3) Durch das Fehlen der Glykogenspeicherung in Nährlösung X:

Die Entwicklung von *Bac. subtilis* α verläuft in Nährlösung X in gleicher Weise, wie diejenige von *Bac. subtilis*, nur ist es mir nie gelungen, in den Stäbchen dieser Kahlhaut des *Bac. subtilis* α Glykogen nachzuweisen. Die Stäbchen waren nach 3—4 Tagen bei 28° normal, wie Fig. K a, b, c, d, e, f, g, h; wenige von ihnen waren schwach angeschwollen, wie Fig. Q a, c, d, e, f, g, h. Mit Jodlösung erkannte man in den Stäbchen große Vakuolen (Fig. Q b), aber kein Glykogen.

4) Durch das in Folgendem beschriebene Wachstum in verschiedenen Nährlösungen: 1) Nach 7 Tagen bei 28°. Nährlösung 0. Lösung klar, runzlige, weiße Kahlhaut. I + Marmor. Lösung trübe, keine Kahlhaut. V. Lösung fast klar, Kahlhaut etwas gebräunt. Va. Lösung trübe, Kahlhaut bräunlich. V β . Lösung schwach trübe, Kahlhaut dünn, bräunlich. V δ . Lösung fast klar, Kahlhaut schwach bräunlich. VI. Lösung trübe, dünne Kahlhaut. IX. Lösung etwas getrübt. X. Lösung trübe, dick, braun; Kahlhaut dick, braun.

2) Nach 14 Tagen bei 28° und 14 Tagen bei Zimmertemperatur. Nährlösung 0. Lösung dick, trübe, tiefbraun, am Glase festhaftender brauner Rand gebildet. III. Lösung gerinnselartig getrübt und gelb. V. Lösung tiefbraun; braune Kahmhaut. V α . Lösung braun, stark trübe; braune Kahmhaut. V β . Lösung getrübt, flockig, bräunlich. IX. Schwache Entwicklung, Lösung opaleszierend-trübe; Schwärmer. X. Lösung dick, tiefbraun.

5) Durch die Intensität des Wachstums in einigen Lösungen:

Intensitätstabelle.

0	I	I + Marmor	II	III	IV	V	V α	V β	V γ	V δ	VI	VII	VIII	IX	X
4	1-4		1-2		4	4				3	4			1-2	4

Alkalibildung in 10 ccm (Nährlösung X nach 4-wöchentlicher Entwicklung bei 28°) = 8,9 ccm $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure.

Es schien mir nicht unwahrscheinlich, daß *Bac. subtilis* α nach längerer Kultur auf Agar sich in *Bac. subtilis* überführen ließe, und impfte ich deshalb 8 Monate altes Sporenmateriale, welches in dicker, braungrauer Kolonie die Agarfläche bedeckte, nach kurzem Abkochen der Sporen, auf Agar mit Dextrose, ließ auf diesem Agar Sporen bilden, impfte mit diesem Sporenmateriale ein neues Agargläschen und verfuhr dann noch 3mal in gleicher Weise. Ich konnte beobachten, wie die graubraune, schleimige, dicke Wuchsform nach und nach von Kultur zu Kultur dünner und weißlich wurde, bis ich schließlich nach ungefähr 2 Monaten die für *Bac. subtilis* beschriebene dünnere, anfangs grauweißlich, später weißlich werdende Agarkolonie erhielt. Die von letzterer Kolonie erhaltenen Sporen impfte ich auf eine sterile Möhrenscheibe und fand, daß die sich jetzt auf der Möhre entwickelnde Kolonie ebenfalls weiß und leistenförmig wurde. Darauf untersuchte ich nochmals das Wachstum in den Nährlösungen und fand, daß auch die Braunfärbung der Lösungen, wie die Wachstumsintensität in denselben, sich von *Bac. subtilis* fast nicht mehr unterschieden. Als einziger Unterschied blieb nur das Ausbleiben der Glykogenspeicherung in den Stäbchen, welche nach 3—4 Tagen in der Kahmhaut in Nährlösung X sich entwickelten. Trotz noch öfters ausgeführter Untersuchungen gelang es mir niemals in diesen, in Nährlösungen X entwickelten Stäbchen Glykogenbildung zu konstatieren. Da ich die Erfahrung gemacht hatte, daß *Bac. subtilis* in Heuabkochen Glykogen sehr leicht bildete, untersuchte ich *Bac. subtilis* α ebenfalls in Heuabkochen und fand, daß diese Stäbchen nach 20—24 Stunden, bei 28° sofort auch viel Glykogen speicherten (Fig. R a, c, d). Diese Versuche beweisen, daß wir es mit einer Varietät zu thun haben, welche nach längerer Kultivierung unter bestimmten Verhältnissen in ihren Eigenschaften mit dem *Bac. subtilis* übereinstimmt.

Es könnte mir mit Recht der Einwand gemacht werden, daß ich vielleicht ursprünglich die beiden Formen in der Kultur gehabt hätte und daß die normalere Form schließlich übrig geblieben und die andere also bei fortgesetzter Kultur zu Grunde gegangen wäre. Obgleich ich zur rechten Zeit versäumt habe, diesem Einwand durch wiederholte Anfertigung von Plattenkulturen zu begegnen, möchte ich doch die Meinung vertreten, daß ich bei der sorgfältigen Isolierung (siehe Einleitung) zuletzt in meinen Kulturen nur eine Form hatte. (Forts. folgt.)

Nachdruck verboten.

Bemerkungen zu „Stutzer: Neue Untersuchungen über . . . salpeterzerstörende Bakterien . . .“⁽¹⁾

Von Hj. Jensen, Buitenzorg.

Durch diese „neuen Untersuchungen“ beabsichtigt Prof. Stutzer meine „Entgegnung“⁽²⁾ zu enkräften. Bei einem genaueren Durch-

1) Centralbl. f. Bak. etc. 2. Abt. Bd. VII. 1901. No. 3.

2) Centralbl. f. Bak. etc. 2. Abt. Bd. V. 1899. No. 21.

sehen scheint es mir jedoch mehr, daß die „neuen Untersuchungen mit den meinigen in etwas größerer Uebereinstimmung stehen als die früher von Stutzer publizierten¹⁾. Aus der „kurzen Zusammenstellung der Ergebnisse“ kann man allerdings nicht leicht diese Annäherung herausfinden; ich glaube aber doch eine solche nachweisen zu können.

In seiner ersten Abhandlung (1899) behauptete Stutzer, daß keine von den 8 denitrifizierenden Bakterienarten, die er verwendete, den Salpeter zerstören konnte²⁾, wenn sie in einer Nährlösung kultiviert wurden, die 10 g Glukose, 5 g Pepton, 5 g Fleischextrakt, 1 g Kaliumphosphat und 2,5 g Salpeter pr. 1000 Aq. enthielt. Unter den 8 verwendeten Species war auch *B. hartlebi*.

Jetzt (1901) experimentiert Prof. Stutzer nur mit 4 Arten, darunter auch mit *B. hartlebi*, und jetzt findet er, daß diese Bakterie in ganz derselben Nährlösung schon in 2 Tagen eine vollständige Denitrifikation hervorgerufen hat³⁾. Die 3 anderen Arten waren noch nicht imstande dazu. Prof. Stutzer kann sich dieses verschiedene Verhalten der Bakterien nicht erklären; ich auch nicht. Durch den Unterschied in den Ergebnissen der Experimente von 1899 und 1901, auf den Prof. Stutzer selbst nicht aufmerksam macht, scheinen jedoch die beiden Versuchsreihen etwas von ihrer Zuverlässigkeit zu verlieren⁴⁾. Wenn Prof. Stutzer also in seiner letzten Publikation⁵⁾ schreibt: Diese Angaben (von Jensen) „decken sich demnach mit meinen (Stutzer's) Beobachtungen nicht“, wäre es richtiger gewesen, wenn er geschrieben hätte: Jetzt decken sich diese Angaben zum Teil mit meinen Beobachtungen, zum Teil aber noch nicht.

Der zweite Gegenstand meiner „Entgegnung“ war die Schlußfolgerung, die Stutzer aus seinen verschiedenen Versuchen zog: Die Kohlehydrate können ebensogut wie die Salze organischer Säuren den salpeterzerstörenden Bakterien . . . als Nahrung und als Energiequelle dienen⁶⁾. Das war 1899. In den „neuen Untersuchungen“ von 1901 ist keine Rede hiervon. Jetzt heißt es⁷⁾: Merkwürdig ist es, weshalb die 3 anderen . . . Arten . . . die nötige Energie zur Vernichtung des Salpeters nicht aus der Glukose zu entnehmen vermögen, während milchsaures Kalium vortrefflich geeignet war.

Endlich muß ich einen logischen Fehler im Aufsätze von Prof. Stutzer berichtigen. Er läßt mich meinen, daß die denitrifizierenden Bakterien sich nicht vermehren können ohne Salpeter

1) Mitt. d. landw. Instit. d. k. Univ. Breslau. 1899. Heft 1.

2) l. c. p. 111 l. 8. v. u.

3) l. c. p. 84 l. 14–12 v. u.

4) Die beiden Versuchsreihen sind auch in anderen Punkten von einander verschieden. Man vergl. z. B. das Verhalten v. *B. nitrovorus* in der ersten Publikation (p. 113 l. 1 v. o.) mit dem in der zweiten (p. 85. l. 8 v. o.)

5) l. c. p. 82. l. 18. v. u.

6) l. c. p. 115. l. 10–7. v. u.

7) l. c. p. 87. l. 14 v. o.

zu zerstören. Er schreibt¹⁾: „Die Frage von Jensen: „Ist denn die Denitrifikation nicht eben ein mit der Vermehrung der Bakterien eng verknüpfter Vorgang?“, muß ich mit nein beantworten. „Es kann unter gewissen Umständen eine wesentliche Vermehrung der Organismen stattfinden, ohne daß der gleichzeitig vorhandene Salpeter zersetzt wird.“

Dies ist nicht ganz logisch. Wenn man sagt, daß die Denitrifikation mit einer Vermehrung eng verknüpft ist, dann ist es nicht dasselbe, als wenn man sagt: Eine Vermehrung ist mit der Denitrifikation eng verknüpft. Im Centralbl. f. Bakt. etc. 1898 p. 404—405 kann Prof. Stutzer nachsehen, daß ich selbst experimentell nachgewiesen habe, daß eine Durchlüftung z. B. die Denitrifikation, aber nicht die Vermehrung der Bakterien verhindert. Ob in Wirklichkeit eine Denitrifikation ohne eine Vermehrung der Bakterien stattfinden kann, ist eine ganz andere Frage, die bis jetzt noch nicht Gegenstand von Untersuchungen gewesen ist. Das angeführte Citat aus meiner „Entgegnung“ hat übrigens durch das Losreißen aus seinem Zusammenhang einen etwas geänderten Sinn bekommen. Vorausgesetzt war nämlich: „Alle Bedingungen für eine Denitrifikation sind da,“ und doch folgt mit der Vermehrung keine Denitrifikation; dann frug ich, und frage immer noch: Wie ist das möglich?

Da ich in meiner hiesigen Wirksamkeit wenig Gelegenheit habe, mich mit der experimentellen Lösung dieser Fragen zu beschäftigen, muß ich meinerseits die Diskussion als hiermit beendigt betrachten.

Buitenzorg, 14. April 1901.

Nachdruck verboten.

Entgegnung auf vorstehende Angaben.

Von A. Stutzer.

Auf die Aeußerung von Herrn Jensen erlaube ich mir Folgendes zu bemerken:

1) In meiner letzten Publikation hatte ich als wahrscheinliche Ursache des verschiedenen Verhaltens von *B. hartlebi* im Jahre 1899 und 1901 angegeben, daß der im ersteren Jahre benutzte Organismus zuvor lange Zeit auf salpeterfreien Nährmedien gezüchtet und dessen Lebensenergie vielleicht dadurch geschwächt gewesen sei, während dies im Jahre 1901 nicht der Fall war.

2) Im Jahre 1899 hatte ich gefunden, daß Glukose, bei gleichzeitigem Zusatz von Salpeter, den damals benutzten denitrifizierenden Bakterien als Energiequelle zur Zerstörung des Salpeters nicht dienen konnte und die gleiche Beobachtung habe ich (ausgenommen das Verhalten des unter 1) erwähnten *B. hartlebi*) auch im Jahre 1901 gemacht.

3) Jensen sucht vom eigentlichen Thema abzulenken. Auf

1) l. c. p. 86. 1 2 v. u.

p. 717 des Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. V ist von Jensen klar und deutlich ausgesprochen, er halte es für unmöglich, daß denitrifizierende Bakterien (ganz allgemein ausgedrückt) in einer Flüssigkeit, welche neben den dort näher angegebenen Nährstoffen 0,25 Proz. Salpeter enthielt (und welche Flüssigkeit nicht durchlüftet wurde), wachsen können, ohne gleichzeitig eine Denitrifikation einzuleiten.

Gegen diese Annahme habe ich vorzugsweise mich gewendet. Die 4 von mir im Jahre 1901 geprüften Bakterienarten konnten bei Gegenwart von Glukose sich vermehren, aber 3 von diesen Arten waren nicht imstande, gleichzeitig eine Zerstörung des Salpeters herbeizuführen. Hier ist eine Verallgemeinerung bezüglich der Denitrifikationsbakterien nicht zulässig, sondern es machen Artunterschiede sich bemerkbar.

Weitere „Bemerkungen“ von Herrn Jensen in dieser Angelegenheit werde ich nicht beantworten.

Nachdruck verboten.

Ueber die Wirkung des Milchthermophors.

[Aus dem Institute für medizinische Chemie und Hygiene zu
Göttingen. Chef: Prof. v. Esmarch.]

Von Dr. C. Hagemann in Stuttgart.

Mit 1 Kurve.

Die Verwendbarkeit des Milchthermophors für die Säuglingsernährung ist in letzter Zeit von verschiedenen Autoren geprüft worden. Dunbar und Dreyer (1) in Hamburg, Kobrack (2) in Breslau, Sommerfeld (3) in Berlin kamen auf Grund ihrer Versuche zu dem übereinstimmenden Resultat, daß die Aufbewahrung der Milch in diesem Apparate ein auch im bakteriologischen Sinne brauchbares Konservierungsverfahren darstelle, bis zu einem gewissen Grade sogar als Ersatz des Pasteurisierens gelten könne. Dies Ergebnis war um so bemerkenswerter, als nach den bekannten Mitteilungen Flügge's über Milchsterilisation (4) in den äußerst resistenten und gerade bei höheren Temperaturen lebhaft wuchernden Milchkeimen, die er als „peptonisierende“ bezeichnet, eine drohende, schwer zu bekämpfende Gefahr für die Säuglingsernährung gesehen, und die systematische Kühllhaltung der Milch, im abgekochten wie im frischen Zustande, gefordert werden mußte. Es gelang jedoch den oben erwähnten Autoren, nachzuweisen, daß die das Kochen überdauernden Sporen im Thermophor ebensowenig, häufig noch weniger, zur Auskeimung und Weitervermehrung gelangen wie im Eisschranke, daß die unter künstlich herbeigeführten günstigen Bedingungen ausgekeimten vegetativen Formen, ebenso wie die empfindlicheren Milchbakterien, eine deutliche Verminderung erfahren, und daß schließlich einzelne, hier besonders zu fürchtende, pathogene Mikroorganismen durch die Thermophorbehandlung sicher vernichtet werden.

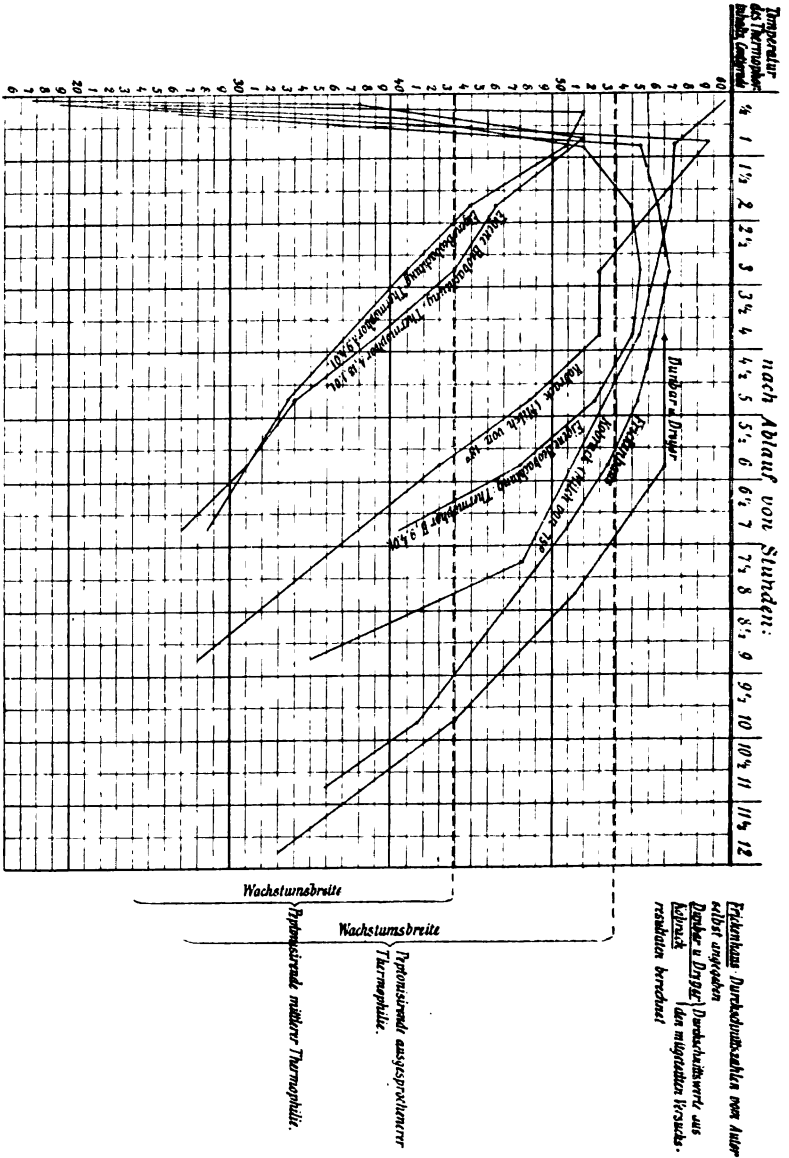
Es wird dem Thermophor eine entschieden konservierende Kraft einhellig zugestanden. Nach Dunbar und Dreyer erfolgt „nicht allein keine Vermehrung des Bakteriengehaltes der rohen Milch in dem Thermophor innerhalb 10 Stunden, sondern es geht auch innerhalb 3—4 Stunden der weitaus größte Teil der in der Milch vorhandenen Bakterien zu Grunde“. Der Thermophor ist „ein neues, wesentliches Hilfsmittel für die Säuglingsernährung, da man einmal in bequemer Weise Milch trinkwarm erhalten und zweitens mit möglichst geringen Temperaturen, ohne eingreifende Milchveränderungen, sichere Abtötung der saprophytischen und vor allem der pathogenen Keime erreicht“ (Kobrack). „Der Keimgehalt aufgekochter, pasteurisierter oder sterilisierter (?) Milch nimmt beim Aufenthalte im Thermophor nicht zu, sondern ab, und ist nach 5 Stunden auf ein Minimum, häufig auf 0, gesunken“ (Sommerfeld).

Nach einer Reihe von Versuchen, die von mir im hiesigen hygienischen Institute mit roher, pasteurisierter, gekochter, gekochter und dann 24 Stunden bei Körpertemperatur gehaltener, endlich mit sterilisierter und danach mit Typhus, Cholera und *Staphylococcus aureus* infizierter Milch vorgenommen wurden, können wir das bisher bekannt gewordene günstige Urteil über die antibakterielle Wirkung der Thermophorbehandlung im allgemeinen unterschreiben. Es ist auch in der That der konservierende und desinfizierende Effekt derselben bei genauem Hinsehen gar nicht so etwas Erstaunliches; er steht nicht, wie von mancher Seite bemerkt worden ist¹⁾, a priori im Widerspruche mit den Flügge'schen Erhebungen. Aus letzteren ging, nach Flügge's eigenen Worten, hervor, daß die kritische Temperatur, bei der eine lebhaftere Wucherung der peptonisierenden Milchbakterien stattfindet, je nach den zwei Typen der letzteren zwischen 24 und 44° C oder zwischen 27 und 54° gelegen ist. Es besteht naturgemäß eine Grenze nach oben wie nach unten, und wofern nur und solange der Thermophor seinen Inhalt über der oberen Temperaturgrenze zu halten vermag, kann man ihm dieselbe Konservierungsleistung zutrauen wie dem Kühlkeller oder Eisschranke, der die Milch vor der unteren Grenze bewahrt. Aber freilich, an die unerläßliche Bedingung einer exakten „thermophorischen“ Funktion, quantitativ und zeitlich, ist der günstige Einfluß des Apparates im bakteriologischen Sinne geknüpft; mit seinem ursprünglichen praktischen Zwecke, der wärmespendenden Wirkung, steht und fällt auch seine antibakterielle Nebenwirkung. Eine graphische Darstellung wird dies veranschaulichen (s. Kurven auf p. 642).

Zweierlei geht aus dieser vergleichenden Zusammenstellung hervor. Zunächst die wichtige Thatsache, daß die Funktion der Thermophore nicht durchweg eine gleichmäßige und zuverlässige

1) So sagt Kobrack: „... alle diese Maßnahmen, die darauf hinausgehen, der gekochten Milch möglichst lange eine hohe Temperatur zu erhalten, sind ungemein bedenklich. Sie stehen im schroffsten Gegensatze zu ... etc.“ Sommerfeld spricht von einem „zunächst berechtigten Mißtrauen“, demzufolge Bakteriologen und Kinderärzte sich zu einer Ablehnung von vornherein veranlaßt sahen.

ist. In dieser Erkenntnis haben wir eine empfindliche Enttäuschung erlebt, nachdem in den bisherigen Veröffentlichungen allgemein die unfehlbare, konstante Wirksamkeit der Apparate hervorgehoben



worden war. Beide Milchwärmer, die mit A und B in der Kurve bezeichnet worden sind, wurden von der Thermophorgesellschaft in Berlin direkt bezogen; Thermophor B wurde — auf unsere hinsichtlich des älteren Apparates geäußerten Bedenken hin — mit

dem Bemerken uns zugesandt, daß dies nun ein „tadellos funktionierender Milchthermophor“ sei. Beide arbeiteten, trotz genauer Befolgung der Gebrauchsanweisung, zunächst ganz mangelhaft; bei B ließ sich späterhin durch festeres Anziehen der Schraube am Thermoeimer eine befriedigende Funktion herbeiführen, bei A nicht. Die Insuffizienz des letzteren wird durch die oben gezeichneten Kurven versinnbildlicht; daß eine solche Leistung in bakteriologischer Hinsicht nicht anders als schädlich wirken kann, ist einleuchtend. Aber — dies ist der zweite Punkt — auch diejenige Thermophorwirksamkeit, die durch die Mehrzahl der Kurven repräsentiert wird, und die man daher wohl als die für die derzeitige Konstruktion des Apparates normale ansehen kann, hat andere, engere Grenzen, als sie bisher angenommen worden sind: die antibakterielle, konservierende Fähigkeit erstreckt sich über eine Wirkungsdauer von durchschnittlich 4—5 Stunden, nicht weiter. Es soll nicht in theoretisierender Weise behauptet sein, daß nun jedesmal genau bei 54° C der günstige Einfluß in das Gegenteil umschlägt, aber es ist doch andererseits nicht von der Hand zu weisen, daß ein Absinken der Temperatur in die 40er oder gar 30er Grade, d. h. in das Temperaturoptimum der peptonisierenden Bakterien, ein weiteres Verweilen der Milch im Apparate dringend widerrät. Schon Frickenhaus (5), der zuerst auf den Milchthermophor aufmerksam machte, hat unter dem Eindruck der Flügge'schen Forschungen geraten, die Milch keineswegs länger als nötig im Apparate zu belassen, und wenn neuerdings Dunbar und Dreyer angeben, daß bei „bis zu 10-stündigem Verweilen der Milch in dem kurz vorher erhitzten Thermophor eine Erhöhung der Keimzahl nicht stattfindet“, so möchte ich hier zum Gegenbeweise aus den Experimenten dieser Autoren selbst folgende Beobachtungen herausgreifen:

	3 Stunden:	Versuch No. III 20 Kolonien	Versuch No. IV 270 Kolonien
Keimzahl der im Thermophor aufbewahrten Milch nach	4	10	720 „ (!)
	5	0	
	7	20	1380 Kolonien (!)
	9	100	

Das sind nun allerdings in beiden Versuchen nach 7 bis 9 Stunden noch lange nicht wieder so viel, wie ursprünglich in der betreffenden Milch waren (84 620 bzw. 475 480 Kolonien), immerhin aber zeigt sich deutlich, daß die zunächst gewaltige Abnahme nach einer gewissen Zeit wieder einer stetigen Zunahme Platz macht, daß also die rationelle Verwendungsdauer des Thermophors überschritten worden ist. Aber weiter, ein anderer Versuch zeigt sogar die absolute Zunahme, und zwar gerade der gefährlichen peptonisierenden Bakterien in der mit Reinkultur geimpften Milch bei 10-stündiger Thermophorbehandlung:

Keimzahl pro ccm	Versuch I
Vor der Infektion	0 Kolonien
Sofort nach der Infektion	145 „
Nach 10-stündiger Aufbewahrung im Thermophor	225 „ (!)

Schlagend ist auch folgendes Ergebnis:

	Keimzahl pro ccm	
30 Minuten bei 65° gehaltene Milch	nach 24-stündigem Stehen	darauf im Thermophor
	bei Zimmertemperatur: 7800 Kolonien	6 Stunden 9 Stunden 8 Kolonien 1413 Kolon. (!)

Wenn nun schon aus diesen Versuchen von Dunbar und Dreyer, wo die Apparate besonders gut funktioniert haben (vgl. Kurve!), die Unzweckmäßigkeit einer zu lange ausgedehnten Thermophorbehandlung sich ersehen läßt, um wieviel gefährlicher muß die protrahierte Einwirkung des Milchwärmers erscheinen bei einer minder befriedigenden Leistungsfähigkeit desselben! Zwei unserer eigenen Versuchsergebnisse bestätigen in der That die Berechtigung dieses Bedenkens.

Versuch am 26. Januar 1901. In Thermophor A und B je 2 rohe Milchproben eingesetzt (in Reagenzgläsern). Dieselben nach 2- bzw. 6-stündiger Aufbewahrung wieder entnommen und mit 0,1 ccm einer 100-fachen Verdünnung Platten angelegt. Es hatte gezeigt nach 2 Stunden:

	Thermophor A		Thermophor B
	52°		56°
Nach 6 Stunden:	32°		47°

Die Zählung nach 48 Stunden ergab:

	2 Stunden gewärmte Milch		6 Stunden gewärmte Milch
aus A:	2000 Kolonien pro ccm		48 000 Kolonien
aus B:	9000 " " "		1 200 " "

Das bedeutet also in dem leidlich funktionierenden B nach 6 Stunden noch einen günstigeren Befund als nach einer kurzen Einwirkung, in dem ungenügend arbeitenden A aber bereits eine beträchtliche Zunahme der Keime.

Versuch am 28. Januar 1901. Rohe Milch;

Thermophor A	nach 1½, Stunden	53°, nach 7 Stunden	33°
" B	" " "	55°, " " "	47°

Platten angelegt; 2 von roher Milch, die während der angegebenen Zeit im Freien gestanden hatte, und je 2 von den Thermophorproben. Zählung nach 48 Stunden ergab:

Von Milch draußen	1½, Stunden	aufbewahrt	7 680 000 Kolonien
" " "	7	" "	10 000 000 "
" " im Thermophor A	1½, "	" "	160 000 "
" " "	7	" "	200 000 "
" " " B	1½, "	" "	15 000 "
" " "	7	" "	400 "

Hier ist also in A nach baldigem Temperaturabfalle eine lebhafte Keimvermehrung erfolgt; in B ist die Wirkung zwar der der kurzen Anwendungsdauer noch voraus, würde aber auch hier vielleicht, nach unseren gegenwärtigen Erfahrungen, sich noch günstiger gestaltet haben in einer Milchprobe, die 2 Stunden eher entnommen worden wäre.

Soviel über die Grenzen der Konservierungsfähigkeit des Thermophors. Was die von mehreren Seiten angeregte Verwendung desselben als Pasteurisirapparat für frische Milch anbetrifft, so sahen wir beim Experimentieren mit verschiedenen pathogenen Bakterien allerdings recht erfreuliche Erfolge: die in steriler Milch

gezüchteten Keime des Typhus, der Cholera und des *Staphylococcus aureus* wurden durch eine 4—5-stündige Thermophorbehandlung der Milch in allen 5 diesbezüglichen Versuchen mit Sicherheit vernichtet. Daß die empfindlicheren, nicht sporenbildenden Milchkeime saprophytischer Art bei richtiger Anwendung des Thermophors zum weitaus größten Teile zu Grunde gingen, ist bereits erwähnt; übrigens war auch diesen gegenüber in 3 von 8 Fällen der Erfolg ein absoluter, indem die Platten steril blieben. Die Anwendungsdauer von 4—5 Stunden möchten wir, solange nicht eine wesentliche Aenderung in der Konstruktion und damit in der Leistungsfähigkeit der Milchwärmer eingetreten ist, als Normalzeit eingeführt wissen; nicht länger, aus den oben erörterten Gründen, aber — wenigstens für nicht vorher „sterilisierte“ Milch — auch nicht kürzer, im Hinblick auf die Versuchsergebnisse Kobrack's mit durch Tuberkulose künstlich infizierter Milch, nach welchen zur sicheren Abtötung dieses resistentesten der gelegentlichen pathogenen Milchkeime erst eine 4-stündige Thermophorbehandlung ausreichte. Denn wenn man auch der von Kobrack wie auch von Dunbar und Dreyer geäußerten Ansicht beipflichten muß, daß es verfrüht wäre, den Thermophor allgemein als Milchentkeimungsapparat für die Kinderernährung zu empfehlen, so ist doch für manche Zwecke, wo ein möglichst wenig chemisch verändertes, der frischen Milch ähnliches Getränk gewünscht wird, die Wirksamkeit des Apparates in diesem Sinne im Auge zu behalten. Speziell das Bedenken von Dunbar und Dreyer, daß in der Praxis die für den Thermophoraufenthalt notwendige Zeit nicht innegehalten werden würde, ließe sich wohl durch genaue Anweisung und eventuell Anbringung eines Täfelchens an dem Apparate, auf welchem die Zeit des jeweiligen Einsetzens notiert werden könnte, beseitigen.

Ich fasse diese Ausführung noch einmal in folgenden Sätzen kurz zusammen:

1) Die zur Zeit im Handel befindlichen Thermophore sind hinsichtlich ihrer Funktion durchaus nicht gleichwertig; eine Garantie seitens der Fabrikanten ist zu verlangen.

2) Die Dauer der Thermophorbehandlung der Säuglingsmilch sei bis auf weiteres nicht über ca. 5 Stunden ausgedehnt.

Litteratur.

- 1) Dunbar und Dreyer, Untersuchungen über das Verhalten der Milchbakterien im Milchthermophor. (Dtsch. med. Wochenschr. 1900. p. 413.)
- 2) Kobrack, Die Bedeutung des Milchthermophors für die Säuglingsernährung. (Zeitschr. f. Hyg. 1900. p. 518.)
- 3) Sommerfeld, Ueber die Verwendung des Milchthermophors. (Berl. klin. Wochenschr. 1900. 8. Okt.)
- 4) Flügge, Die Aufgaben und Leistungen der Milchsterilisierung gegenüber den Darmkrankheiten der Säuglinge. (Zeitschr. f. Hyg. 1894. p. 272.)
- 5) Frickenhaus, Der Thermophor v. Szczawinski's und seine Anwendung in der ärztlichen Praxis. (Dtsch. med. Wochenschr. 1894. p. 634.)

Nachdruck verboten.

Ueber den „Milchthermophor“.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Zürich.]

Von Dr. Lorenz Verney.

Nachdem in den letzten Jahren die Frage der Milchsterilisation auch praktisch eingehend geprüft und die Brauchbarkeit des Soxhlet'schen Verfahrens unter Abkürzung der Erwärmung allgemein anerkannt worden war, erklärten sich die meisten Hygieniker, namentlich auf Grund der Flügge'schen Versuche, für ein kurzdauerndes Kochen der Milch im Wasserbad und für eine möglichst schnelle Abkühlung.

Auch diejenigen Autoren, welche die Milch nur auf 65—75° C erhitzen, betonten die Notwendigkeit der Aufbewahrung der Milch bei einer niedrigen Temperatur.

Ein Apparat, wie der Thermophor, welcher bezweckt, die Milch während mehrerer Stunden warm zu erhalten, müßte also von vornherein das Mißtrauen der Hygieniker erwecken. Aber die von Dunbar und Dreyer (1) ausgeführten Untersuchungen zeigten, daß diese Annahme nicht ganz richtig war.

Diese Autoren erkannten in der That, daß der Thermophor fast alle in normaler Weise in der Milch vorhandenen Bakterien tötet und daß selbst nach einem Aufenthalt von vielen Stunden in diesem Apparate die Milch sehr wenige Bakterien enthält.

Diese Resultate waren zu unerwartet und für die Praxis zu wichtig, als daß Kontrolluntersuchungen auf sich hätten warten lassen. Kobrak (2), Sommerfeld (3), Du Mesnil (4), Markl (5) haben ihre Beiträge zu der Frage gebracht. Aber ihre Resultate sind nicht übereinstimmend. Während Kobrak und Sommerfeld bei dem Gebrauche des Thermophors eine fast vollständig sterilisierte Milch erhalten und die Bakterien der Tuberkulose und des Typhus töten, kommen Du Mesnil und Markl zu dem Schlusse, daß dieser Apparat nicht unbedingt zu empfehlen sei.

Auch ich bin veranlaßt worden, unter der Leitung des Herrn Dr. W. Silberschmidt eine Reihe von Versuchen über diesen Gegenstand zu machen. Ich will die Resultate meiner Untersuchungen hier in Kürze mitteilen.

Der Milchthermophor besteht aus einem doppelwandigen cylindrischen Eimer aus Blech, dessen Inneres für die Aufnahme der Flasche bestimmt ist. Dieser Behälter ist in eine Kartonhülle mit Deckel untergebracht. Zwischen beiden Wandungen ist eine krystallisierte Masse (essigsaueres Natron) enthalten.

Ich habe mich dreier Apparate der deutschen Thermophor-Aktiengesellschaft in Berlin bedient, von denen 2, A und B, für Flaschen mit 250 ccm Inhalt, und der dritte, C, für solche mit 500 ccm bestimmt sind.

Für den großen Apparat wurden ausschließlich die mit „Thermophor“ bezeichneten Glasflaschen angewandt; bei den kleinen Apparaten wurden auch gewöhnliche Soxhlet-Flaschen benutzt, ohne daß jedoch ein deutlicher Unterschied mit den Thermophorflaschen beobachtet worden wäre.

Die Flaschen wurden mit nicht entfetteter Watte verschlossen einige Parallelversuche mit Gummiverschluß ließen keinen Unterschied erkennen.

Die Behälter wurden 8 bezw. 10 Minuten lang in kochendem Wasser erhitzt, wie dies auf dem Deckel des Apparates angegeben war, und die Milch dann in den Apparat gestellt.

Hier seien einige Temperaturmessungen angeführt:

Temperatur der Milch in der Flasche	A		B		C	
	in ° C		in ° C		in ° C	
vor Beginn des Versuches	15	18	17	19	16	18
nach 1 Stunde	53	55	51	—	49	—
„ 2 Stunden	56	56,5	53	55	53	54
„ 3 „	56	56	54,5	55,5	53,5	—
„ 4 „	47	—	42	—	53,5	54
„ 5 „	—	—	—	36	—	—
„ 6 „	34	36	28	—	48	—
„ 7 „	—	—	—	27	—	44
„ 8 „	28	29	25	—	39	—
„ 9 „	23	—	22	—	36	36

Die beobachteten Maximaltemperaturen betrafen für A 57° C, für B 55,5° C, für C 55° C.

Man sieht, daß die verschiedenen Modelle sich nicht ganz gleichen. Andererseits giebt jedes Modell etwas andere Resultate bei jedem neuem Versuche. Die Anfangstemperatur der Milch beeinflusst in deutlicher Weise das erreichte Maximum. Ich muß auch hinzufügen, daß im Verlauf meiner Untersuchungen das kleine Modell A nur Maxima von 53 und sogar 52° C gab, und daß ich es habe außer Gebrauch lassen müssen.

Vergleichen wir unsere Resultate mit den von Frickenhans (6), Dunbar und Dreyer, Kobrak und Sommerfeld, so lauten dieselben viel ungünstiger. Bei unseren ersten Versuchen fiel uns schon auf, daß die Temperatur der Milch nicht so lange hoch blieb, wie dies von den erwähnten Autoren angegeben wird, und wir prüften zur Kontrolle 2 weitere Apparate.

Allerdings ist z. B. auch aus den von Kobrak angegebenen Temperaturmessungen ersichtlich, daß zwischen den einzelnen Apparaten große Unterschiede beobachtet wurden; wir müssen daraus schließen, daß die von der Thermophor-Gesellschaft gelieferten Apparate nicht alle gleich gute Resultate ergeben.

Um mich beständig unter gleiche Bedingungen zu versetzen, habe ich mich ausschließlich und, solange es in gutem Zustande war, des kleinen Modells A bedient, welches von der deutschen Thermophorgesellschaft direkt bezogen worden war. Wenn ich von den anderen Gebrauch gemacht habe, werde ich es ausdrücklich

sagen. Ich habe auch ausschließlich kalte Milch von der Temperatur von 16—19° C in den Thermophor gestellt.

Meine bakteriologischen Untersuchungen haben sich zuerst auf pathogene Bakterien erstreckt. In Thermophor- oder Soxhlet-Flaschen, die mit Milch gefüllt und 15 Minuten lang bei 115° C im Autoklaven sterilisiert worden waren, impfte ich die betreffenden Bakterien, und nach verschieden langem Aufenthalt in dem Brütschrank setzte ich diese Flaschen der Einwirkung des Thermophors aus. Es wurden dann nach 1- und nach mehrstündiger Einwirkung daraus Gelatine- oder Agarplatten oder Röhrenkulturen angelegt.

Ich habe angefangen mit dem *B. pyocyaneus*. — Während der ersteren 3—4 Stunden vermindert sich die Anzahl der Bakterien in merklicher Weise, dann vermehrt sie sich z. B.: Anzahl der Kolonien in einer Platinöse Milch vor Einwirkung des Thermophors 2418; nach 4 $\frac{1}{2}$ Stunden 112, nach 6 $\frac{1}{2}$ Stunden 310, nach 8 Stunden 556. In keinem einzigen Falle wurde der *B. pyocyaneus* abgetötet. Die Farbstoffbildung wurde durch die Einwirkung des Thermophors nicht beeinträchtigt; es konnte nur eine gewisse Verlangsamung in der Entwicklung wahrgenommen werden. Die Pathogenität der mit *B. pyocyaneus* geimpften Milch für weiße Mäuse war entsprechend der Abnahme der Bakterienzahl vermindert, aber nicht aufgehoben; es genügte ein mehrstündiges Aufbewahren im Brütschrank zur Erlangung der ursprünglichen Virulenz.

Versuch: Maus 1 erhält 1 ccm einer Kultur von *Pyocyaneus* in Milch vor der Einwirkung des Thermophors subkutan injiziert; Tod nach einem Tage. Maus 2 wird 1 ccm derselben Milch nach 10-stündiger Einwirkung des Thermophors injiziert; Das Tier ist schwer krank, hat nach einigen Tagen einen Absceß an der Injektionsstelle, erholt sich aber wieder. Maus 3 erhält 1 ccm derselben Milch, welche nach 8-stündiger Einwirkung des Thermophors 10 Stunden lang in den Brütschrank gestellt wurde: Tod nach einem Tage.

Im Blute und im Milzsaft von Maus 1 und 3 wurde *B. pyocyaneus* in Reinkultur nachgewiesen.

Aus den angeführten Resultaten ist ersichtlich, daß auch nach mehrstündiger Einwirkung des Thermophors der *B. pyocyaneus* in der Milch nicht beträchtlich beeinflußt wird.

Ich habe ähnliche Untersuchungen mit einem virulenten *Streptococcus pyogenes* ausgeführt. Die Resultate sind mit den oben mitgeteilten übereinstimmend gewesen: Dieser Mikroorganismus ist nicht abgetötet worden. Die Zahl der Kolonien vermindert sich während der ersten 3—4 Stunden, dann vermehrt sie sich allmählich. Z. B. Anzahl der Kolonien vor Einwirkung des Thermophors 310, nach einer Stunde 124, nach 3 $\frac{1}{2}$ Stunden 93, nach 6 Stunden 71, nach 7 $\frac{1}{2}$ Stunden 133.

Die Pathogenität wurde an Meerschweinchen geprüft.

Ein Tier, welches mit nicht erhitzter Milch intraperitoneal geimpft worden war, starb nach einem Tage. Das zweite, mit 5 ccm Thermophormilch (nach

8-stündiger Einwirkung) injizierte blieb am Leben. Dieses Resultat läßt sich wohl mit der Abnahme der Keimzahl erklären.

Einige weitere Versuche wurden mit Milch von Kühen, welche am gelben Galt einer Streptokokkenmastitis erkrankt waren, vorgenommen.

In den Platten- oder in den Bouillonkulturen, welche man erhält nach der Einwirkung des Thermophors auf rohe, von kranken Tieren stammende Milch, findet man nicht mehr die langen charakteristischen Ketten dieser Art, aber man sieht viele Diplokokken und manchmal sehr kurze Ketten von 4 und von 6 Gliedern. Durch Reinkulturen habe ich mich überzeugen können, daß unter der Einwirkung des Thermophors dieser Mikrobe wirklich solche Veränderungen erleidet.

Der Diphtheriebacillus verhält sich ähnlich; dieser Mikroorganismus widersteht in der Milch der Einwirkung des Thermophors und bleibt für Meerschweinchen pathogen.

Versuch: Meerschweinchen 1 erhält 3 ccm einer 2-tägigen Kultur von *B. diphtheriae* in Milch subkutan. Meerschweinchen 2 wieder 3 ccm derselben Milch injiziert nach 14-stündiger Einwirkung des Thermophors *B.* Meerschweinchen 1 starb nach 2, Meerschweinchen 2 nach 4 Tagen. Im subkutanen Gewebe des letzteren Tieres wurden Diphtheriebacillen kulturell nachgewiesen.

Die mit *Proteus vulgaris* und mit *Bac. coli commune* ausgeführten Versuche lieferten ähnliche Resultate.

Hier sei noch ein Versuch mit einem tuberkelbacillenhaltigen Sputum angeführt.

Versuch: Etwa 20 ccm tuberkelbacillenhaltigen Sputums werden mit etwa 250 ccm sterilisierter Milch in einer Flasche vermischt. Meerschweinchen 1 (320 g) erhält 2 ccm der Milch intraperitoneal vor Einwirkung des Thermophors. Meerschweinchen 2 (360 g) wird 8 ccm derselben Milch injiziert nach 16-stündiger Aufbewahrung im Thermophor *B.* Beide Tiere werden 40 Tage nach der Impfung getötet und sectiert. Meerschweinchen 1 wiegt 325 g, Meerschweinchen 2 335 g. Typische Veränderungen der inguinalen, retroperitonealen und retrosternalen Lymphdrüsen in beiden Fällen. Tuberkel in Milz, Leber und Lunge, namentlich bei dem mit Thermophormilch geimpften Meerschweinchen 2. In den Lymphdrüsen beider Tiere wurden Tuberkelbacillen mikroskopisch nachgewiesen.

Für diesen Fall erscheint uns der Beweis geleistet, daß trotz regelrechter 14-stündiger Anwendung des Thermophors die Tuberkelbacillen nicht abgetötet worden sind.

Ich habe mich hierauf mit der Einwirkung des Thermophors auf die Bakterien der rohen Milch beschäftigt.

Die gut geschüttelte Milch wurde mit einer sterilen Pipette entnommen. Für eine Versuchsreihe benutzte ich stets dieselbe mittlerweile ausgekochte Pipette, und es wurden etwa gleichgroße Tropfen (1—3) eingeimpft, so daß für die einzelnen Versuchsreihen die Resultate vergleichbar sind. In den verschiedenen Versuchsreihen war aber die Menge der überimpften Milch nicht gleich.

Ich berichte die Resultate einiger Versuche:

Anzahl der Kolonien	A			C		B	
	Gelat.	Agar	Gelat.	Agar	Gelat.	Agar	Gelat.
bei Beginn des Versuches	5122	18 972	2453	14 360	5240	—	—
nach 1-stündiger Einwirkung des Thermophors	2560	13 960	—	—	—	—	—
nach 2 Stunden	485	2 232	558	3 030	608	—	2 540
„ 3 „	280	1 255	—	—	—	1 798	—
„ 4 „	—	1 650	—	1 540	—	—	—
„ 5 „	510	—	115	930	396	—	1 530
„ 6 „	—	3 986	—	—	—	5 022	—
„ 7 „	—	6,138	—	—	—	—	—
„ 8 „	6536	—	4588	—	—	—	15 800
„ 9 „	—	11 312	—	19 240	7220	31 806	—
in der rohen Milch nach dem Versuch	6370	20 216	3712	17 890	6470	25 111	18 420

Man sieht, daß für die kleinen Apparate A, B die Anzahl der Bakterien sich allmählich vermindert, um das Minimum nach 3—5 Stunden zu erreichen, wenn die Temperatur der Milch noch auf 47—56° C ist; hierauf anfängt sich zu vermehren, nach 6 Stunden ziemlich merkbar wird und nach 8 Stunden ungefähr dieselbe ist wie in der normalen Milch. Uebrigens habe ich nicht immer dasselbe Resultat erhalten; manchmal waren die Kolonien nach 7—9 Stunden zahlreicher als in der rohen, nicht erwärmten Milch; andere Male waren sie in geringerer Anzahl.

Für den großen Apparat sind die Resultate ein wenig verschieden gewesen: Die Verminderung der Bakterienzahl ist weniger merkbar, aber dauernder, und man begegnet dem Minimum nach 5—6 Stunden; hierauf vermehrt sich die Anzahl der Kolonien sehr schnell, und nach 8—9 Stunden, wenn die Temperatur der Milch noch auf 35—39° ist, findet man immer deren mehr als in dem anderen Apparate.

Die hier angeführten Resultate sind von denen von Kobrak, Dunbar, Dreyer und Sommerfeld verschieden; sie stimmen dagegen überein mit denjenigen von Markl und Du Mesnil.

Es war wohl ohne weiteres anzunehmen, daß nach den verschiedenen Ergebnissen der Temperaturmessungen die Resultate der bakteriologischen Untersuchung verschieden ausfallen würden. Bei einem Apparate, welcher, wie der Milchthermophor, dazu bestimmt ist, vom Laien benutzt zu werden, sind aber unserer Ansicht nach die Schattenseiten gründlich zu erwägen, vordem von autoritativer Seite eine Empfehlung erfolgt.

Ein anderer Punkt, der gewiß Würdigung erheischt, ist die Umwandlung der Milchflora, welche durch die Einwirkung des Thermophors bedingt ist.

Die Bakterien der Milch, welche der Einwirkung des Thermophors unterworfen worden ist, sind nicht mehr dieselben wie die, welche man gewöhnlich darin antrifft. Der Thermophor bedingt eine wahre Auswahl von Mikroben: einige Bakterienformen werden abgetötet, andere bleiben am Leben und vermehren sich.

Flügge (7) hat das große Verdienst, die Bedeutung der peptonisierenden Bakterien, welche in der erhitzten, aber nicht vollständig sterilisierten Milch enthalten sind, erkannt und

hervorgehoben zu haben. — Diese Mikroorganismen sind in der Milch, welche 6—8 Stunden im Thermophor aufbewahrt wurde, in sehr großer Menge enthalten. Die mit der Thermophormilch angelegten Gelatineplatten sehen ganz anders aus wie die mit roher Milch angelegten. Erstere zeichnen sich ganz besonders durch die große Anzahl von verflüssigenden oder wurzelartig aussehenden Kolonien aus. Diese Kolonien entsprechen den verschiedenen Bacillen der Heubacillengruppe. Eine Anzahl dieser Kolonien wurde isoliert und deren Milch peptonisierende Eigenschaften festgestellt. Daneben kamen noch andere Mikroorganismen (Sarcinen, Kokken, Stäbchen) zur Entwicklung.

Es ist nicht unsere Absicht, die Schädlichkeit der peptonisierenden Bakterien der Milch des genauem auseinandersetzen; nach den Untersuchungen von Flügge, von Subbert, von Weber (8) u. A. ist die Pathogenität für Tiere nachgewiesen worden, und es darf wohl angenommen werden, daß diese Mikroorganismen auf den Säuglingsdarm ebenfalls schädlich wirken können.

Ich habe noch einen Vergleich anstellen wollen zwischen dem Thermophor und dem für die Sterilisierung der Milch am meisten gebrauchten Soxhlet'schen Apparate.

Die mit Watte verschlossenen sterilisierten Flaschen wurden in der gewöhnlichen Weise mit Milch gefüllt, erwärmt und 10—12 Minuten lang in kochendem Wasser gelassen, dann herausgenommen und bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

Die Gelatineplatten, welche man mit Soxhlet-Milch entweder unmittelbar nach Wegnahme der Milch aus dem Apparat oder nach 9-stündigem Aufenthalt in dem Laboratorium (d. h. bei der Temperatur von 16—19° C) zeigen immer wenige Kolonien, z. B. in einem Falle 11, in einem anderen 23, in einem dritten 3 für jede mit 10 Tropfen Milch geimpfte Platte. Viele von diesen Kolonien entwickeln sich sehr spät, z. B. nach 5—6 Tagen bei einer Temperatur von 19° C.

Wenn man dieselbe Milch der Einwirkung des Thermophors unterwirft, anstatt der des Soxhlet, findet man nach 3—5 Stunden viel mehr Kolonien darin; z. B. in parallelen Untersuchungen habe ich deren 710, 930, 420 für jede mit 2 Tropfen Milch geimpfte Platte gefunden. Nach einem Aufenthalt von 9 Stunden in dem Thermophor findet man, wie gesagt, ebensoviele Kolonien wie in der nicht behandelten Milch, welche als Kontrolle dient.

Wenn man während 1 oder 2 Tagen die rohe, die Soxhlet-Milch und diejenige des Thermophors, welche zu diesem Versuche gedient haben, im Laboratorium stehen läßt, und man dann die Platten macht, erhält man noch dasselbe Resultat.

Z. B. in einem Falle habe ich erhalten:

118 Kolonien für die Milch des Soxhlet (10 Tropfen), 10120 für die des Thermophors (1 Tropfen), 14630 für die nicht behandelte (1 Tropfen).

Wenn, anstatt die 3 mit diesen Milchsorten gefüllten Flaschen

in dem Laboratorium zu lassen, man sie in den Brüttschrank bei 34 oder 37° C bringt, so ändert sich die Milch des Thermophors sofort: Nach Verlauf von 7—16 Stunden ist sie geronnen und zum Teil peptonisiert; die nicht erwärmte Milch gerinnt gewöhnlich später, nach 16—24 Stunden, die Milch des Soxhlet nach 1—2 Tagen. Die Platten zeigen viele Kolonien in den 3 Fällen, aber die Milch des Soxhlet enthält deren immer weniger als die anderen. Z. B. in einem Falle habe ich erhalten: Für die Milch des Soxhlet 22370 (3 Tropfen), 20450 für die nicht behandelte (1 Tropfen) und 47800 für die des Thermophors (1 Tropfen).

Endlich, wenn man die 3 Flaschen in den Eisschrank bringt und 2—3 Tage wartet, um die Platten zu machen, erhält man noch dieselben Resultate, aber in einer mehr in die Augen springenden Weise; sehr wenige Kolonien für den Soxhlet, eine fast unendliche Anzahl in den anderen Fällen.

Z. B. 12 Kolonien für die Milch des Soxhlet (10 Tropfen), 39618 für die rohe Milch (1 Tropfen) und 24518 für die des Thermophors (2 Tropfen).

Man sieht also, daß wenigstens vom bakteriologischen Gesichtspunkte aus, das Verfahren von Soxhlet viel größere Sicherheit bietet als der Thermophor.

Aus dem Mitgeteilten ist ohne weiteres ersichtlich, daß der Thermophor nicht eine ausreichende Sterilisierung der Milch gestattet.

Die weitere praktisch wichtige Frage: Ist der Thermophor geeignet, um die im Soxhlet'schen Apparate erhitzte Milch warm zu halten? habe ich auch zu lösen versucht.

Die Milch, welche in der oben angegebenen Weise im Soxhlet'schen Apparate 10—12 Minuten lang der Temperatur des kochenden Wassers ausgesetzt worden war, wurde sofort oder nach einiger Zeit in den Thermophor gebracht und bakteriologisch untersucht. Von den erhaltenen Resultaten seien folgende mitgeteilt:

	A	B
Soxhlet-Milch vor der Einwirkung des Thermophors	13	1
	(10 Tropfen)	(10 Tropfen)
„ nach 3 Stunden im Therm. aufbewahrt	15	2
	(10 Tropfen)	(10 Tropfen)
„ „ 6 „ „ „ „	182	173
	(10 Tropfen)	(5 Tropfen)
„ „ 9 „ „ „ „	3560	6696
	(1 Tropfen)	(2 Tropfen)
rohe Milch	3920	—
	(1 Tropfen)	

Wir haben auch den Einfluß des Thermophors bei 3-stündigem Flaschenwechsel geprüft, die Resultate sind ungefähr dieselben geblieben.

In keinem einzigen Falle haben wir beobachten können, daß eine Soxhlet-Milch durch die Einwirkung des Thermophors vollständig sterilisiert worden war; wir haben vielmehr regelmäßig

festgestellt, daß nach 7—8 Stunden die Keimzahl in der Milch steigt und sogar die Zahl der in der ungekochten Milch enthaltenen Kolonien erreichen kann.

Nach diesen Resultaten können wir uns nicht entschließen, den Milchthermophor für die Erwärmung der Soxhlet-Milch in der Haushaltung zu empfehlen. Nicht die relativ günstigen Plattenversuche nach 3 oder nach 4 Stunden dürfen ausschlaggebend sein, wohl aber die sehr große Zunahme der Mikroorganismen nach 6 und mehr Stunden.

Die Ergebnisse unserer mit 3 Milchthermophoren vorgenommenen Untersuchungen lassen sich, wie folgt, zusammenfassen:

1) Eine sichere Abtötung von pathogenen Mikroorganismen (*Pyocyaneus*, Diphtherie, *Streptococcus*, *Proteus*, *Coli*, *Tuberkelbacillus*) in der Milch wurde trotz mehrstündiger Einwirkung des Thermophors nicht erzielt.

2) Die Zahl der in der rohen Milch enthaltenen Bakterien sinkt in den ersten 2—5 Stunden, steigt dann wieder, so daß nach 8—9-stündiger Aufbewahrung im Thermophor die Bakterienzahl ungefähr so groß ist wie in der nicht erwärmten Milch.

3) Die Bakterienflora der Milch wird durch die Einwirkung des Thermophors verändert; es verschwinden verschiedene Arten, währenddem namentlich die peptonisierenden Bakterien bedeutend an Zahl zunehmen.

4) Die 10—15 Minuten lang im Soxhlet'schen Apparate erhitze Milch wird im Thermophor nicht vollständig sterilisiert. In der Regel steigt die Bakterienzahl schon nach 6—7-stündiger Aufbewahrung im Thermophor beträchtlich.

5) Die von anderen Autoren erhaltenen günstiger lautenden Resultate lassen sich wahrscheinlich dadurch erklären, daß die einzelnen von der Thermophorgesellschaft gelieferten Apparate nicht eine gleich hohe oder eine gleich lange dauernde Erwärmung gestatten.

6) Auf Grund unserer Untersuchungen können wir die Anwendung des Milchthermophors für die Säuglingsernährung nicht empfehlen.

Litteratur.

- 1) Dunbar und Dreyer, Deutsche med. Wochenschr. 1900. No. 26.
- 2) Kobrak, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXIV. 1900. Heft 3.
- 3) Sommerfeld, Berl. klin. Wochenschr. 1900. No. 41.
- 4) Du Mesnil, Münch. med. Wochenschr. 1901. p. 237.
- 5) Markl, Aerztl. Centralztg. 1900; Ref. Schweiz. Blätter f. Gesundheitspl. 1901. Febr.
- 6) Frickenhaus, Deutsche med. Wochenschr. 1894. p. 634.
- 7) Flügge, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XVII. 1893.
- 8) Weber, Arbeiten aus dem kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XVII. 1900.

**Original-Referate aus bakteriologischen und gärungs-
physiologischen Instituten, Laboratorien etc.**

Nachdruck verboten.

**Arbeiten der botanischen Abteilung der Versuchsstation
des kgl. pomologischen Institutes zu Proskau.**

III. Bericht¹⁾.

Von Dr. Rud. Aderhold, Leiter der Abteilung.

1) Ueber die Sprüh- und Dürffleckenkrankheiten des Steinobstes. In den letzten Jahren hat unser Steinobst, namentlich die Kirschen, vielerorts unter kleinen, braun und dürr werdenden Blattflecken gelitten, die vielfach aus dem Blatte herausfallen, ein Loch an ihrer Statt zurücklassend, weshalb die Erscheinung als Schußlöcher- oder Schrotschußkrankheit bezeichnet worden ist. Sie hat stellenweise vorzeitigen Blattfall zur Folge gehabt und ist nicht selten eine ernste Kalamität gewesen. Deshalb ist sie zum Gegenstande einer umfangreichen Untersuchung gemacht worden, die abgeschlossen werden konnte und demnächst im Druck erscheinen wird. Es ist dabei versucht worden, alle bekannten Ursachen für Dürfflecken auf Steinobstblättern zusammenzustellen und kritisch zu betrachten. Die Ausdrücke Sprühflecken- oder allgemeine Dürffleckenkrankheiten werden dabei gegenüber der Bezeichnung als Schußlöcherkrankheiten bevorzugt, da das Ausfallen wohl häufig, aber nicht regelmäßig eintritt. Es kommt am präzisesten im jungen, noch lebhaft wachsenden Blatte zustande und wird hier von Callusbildung begleitet. Diese wird um so geringer, je älter das Blatt ist und bleibt schon beim nahezu ausgewachsenen Blatte aus. Hier findet das Ausfallen infolge passiver Lostrennung des zusammentrocknenden Fleckens oder infolge Ausbröckelns desselben statt, Moden, die sich beide aus der Brüchigkeit und Hinfälligkeit des Steinobstblattes erklären. Von der Ursache des Fleckens ist das Ausfallen ganz unabhängig.

Der Ursache nach kann man parasitäre und nicht parasitäre Dürfflecken unterscheiden. Letztere können ihre Ursache in sogenanntem Sonnenbrande oder in naßkalter Witterung oder in Bespritzungen mit Fungiciden haben. Auch regelrecht bereitete Bordeauxbrühe kann beim Steinobste unter gewissen, bisher nicht genauer erkannten Verhältnissen Dürfflecken und nachfolgend Schußlöcher verursachen, wie solches eigene Versuche wie Litteraturangaben beweisen. Parasitäre Dürfflecken können durch sehr verschiedene Pilze verursacht werden. Mit mehr oder minder Recht betrachtet man, soweit bekannt, folgende 26 Arten aus 10 Gattungen als Erzeuger von Dürfflecken auf kultiviertem Steinobste.

1) Größtenteils wörtlich aus dem Sr. Excellenz dem Herrn Minister erstatteten Jahresberichte der Abteilung. — II. Ber. in diesem Centralbl. Bd. VI. p. 593.

I. *Phyllosticta prunicola* (Op.) Sacc., *Pruni avium* Allesch., *vulgaris* var. *Cerasi* Desm., *Persicae* Sacc., *persicicola* Oud., *circumscissa* Cooke und *Beijerincki* Vuill. II. *Ascochyta chlorospora* Speg. III. *Septoria erythrostoma* Thüm., *effusa* Desm., *Cerasi* Pass. IV. *Hendersonia foliorum* Fuck., *cerasella* Prill. et Delacr., *speciosa* Aderh., *marginalis* Aderh. V. *Cylindrosporium Padi* Krst. VI. *Ovularia circumscissa* Sorok. VII. *Didymaria prunicola* Cav. VIII. *Cercospora persicae* Sacc. IX. *Cladosporium condylonema* Pass. X. *Clasterosporium carpophilum* (Lev.) Aderh. XI. *Cercospora cerasella* Sacc., *circumscissa* Sacc., *rubro-cincta* E. et E., *consobrina* E. et E. und *prunicola* E. et E.

Alle diese Pilze sind nach den darüber vorliegenden Litteraturangaben und vielfach nach Durchsicht von Exsiccaten resp. selbst gesammeltem Materiale in der Weise behandelt worden, daß die Synonyme, Exsiccate, Diagnosen, Wirte und die phytopathologische Bedeutung jeder Art kritisch besprochen werden und wo etwas darüber bekannt ist, auch die Bekämpfung Erwähnung findet. Namentlich hinsichtlich der Synonymik sind dabei manche neue Resultate erzielt worden, aber auch die Diagnosen konnten mehrfach ergänzt werden. Für Deutschland haben anscheinend *Clasterosporium carpophilum* (Lev.) Aderh., *Cercospora cerasella* und *Phyllosticta Beijerincki* die größte Verbreitung. Besonders die erstgenannte Art ist gegenwärtig in unserem Vaterlande die häufigste Ursache für Spruhflecken- und Schrotschukrankheit. Es ist jedoch zu erwähnen, daß bei Epidemien bisweilen (wahrscheinlich oft) mehrere Arten am selben Orte beteiligt sind. *Phyllosticta Beijerincki* Vuill. tritt z. B. so häufig in Gesellschaft von *Clasterosporium* auf, daß Vuillemin glaubte, in ihr einen Entwicklungszustand dieser Art erblicken zu sollen. Unsere Kulturen sprechen jedoch nicht für einen solchen, und wir sind geneigt, die *Phyllosticta* für saprophyt zu halten, da zwei Infektionen, allerdings auf nicht mehr ganz junge Steinobsteile, ohne Erfolg blieben. Dagegen konnten *Clasterosporium* und *Cercospora cerasella* zu erfolgreichen Infektionen benutzt werden. Diese beiden Pilze sind überhaupt nach vielen Richtungen hin genauer studiert worden und sollen noch Gegenstand zweier besonderer Abhandlungen werden, von denen diejenige über *Cercospora cerasella* Sacc. bereits fertig vorliegt und sogleich Erwähnung finden soll. Die hierbei besprochene Abhandlung über die Durrflecken im allgemeinen schließt mit Betrachtungen über Größe und Farbe der Flecken in Beziehung zum erzeugenden Pilze. Es ergibt sich, daß Flecken verschiedener Ursache aneinander nicht selten so vollkommen gleichen, daß eine Bestimmung der Ursache nur durch Aufsuchung des Erregers, nicht aus den Krankheitssymptomen allein, möglich ist.

2) *Mycophaerella cerasella* n. spec., die Perithezienform von *Cercospora cerasella* Sacc. Unter diesem Titel ist eine kleine Abhandlung in den Ber. d. deutschen bot. Ges. Bd. XVIII.

Heft 6. p. 246—249 veröffentlicht worden, durch welche die Ueberwinterungsweise dieses Blattfleckenerregers klargelegt wird. Schon früher (vergl. I. Bericht, d. Centralbl. Bd. V. p. 524) konnte gezeigt werden, daß die stromatischen Mycelknollen, welche die Conidienträgerbüschel bilden, im Frühjahr auf überwinterten Blättern neuerdings fruktifizieren. Im letzten Jahre gelang es auch, die zur Conidienform gehörigen Perithezien aufzufinden und unter obigem Namen in die Wissenschaft einzuführen. Die Diagnose lautet:

Perithezien herdenweise, punktförmig, schwarz, nur von der Epidermis oder Cuticula bedeckt, blattober- und -unterseits, kugelig oder etwas ellipsoid, mit oder ohne kurzen Hals. 65—100 : 58—90, im Mittel 81 : 69 μ diam. Asci cylindrisch oder sackartig, 40—60 : 8—10 μ , 8-sporig. Sporen 2-reihig, farblos, 2-zellig, vordere Zelle dicker, kegel- oder rübenförmig, hintere schmälere Zelle cylindrisch, beidendig abgerundet, gerade oder meist etwas gebogen, 13—17 : 3—4 μ . Auf toten, überwinterten Blättern von *Prunus avium*.

Die Zugehörigkeit wurde durch Kultur und Impfung erwiesen. Es ist somit der Pilz in seiner gesamten Entwicklung bekannt. Entfernen des gefallen Laubes ist ihrethalben notwendige Bekämpfungsmaßregel, neben welcher im Frühjahr Bordeauxbrühe von Mitte Mai bis in den Juli hinein anzuwenden sein würde.

3) Ueber die Synonymie von *Clasterosporium amygdalearum* Sacc. hat sich ein interessantes Resultat, das deshalb nicht vorenthalten werden soll, insofern ergeben, als dieser Pilz dem oft genannten und von Beijerinck als Erreger des Gummiflusses (Onderzoekingen over de besmettelijkheid der Gom-ziekte bij Planten. Amsterdam 1883), betrachteten *Coryneum Beijerincki* Oud., identisch ist, wie ich durch morphologische Vergleichung und künstliche Uebertragung von Originalkulturen Beijerinck's sicherstellen konnte. Den deutschen Forschern ist diese naheliegende Synonymie bisher ganz entgangen (vgl. Frank, Arb. d. biologischen Abt. f. Land- u. Forstwirtschaft. Bd. I. p. 261—264), während die Franzosen (vergl. Vuillemin, Journ. d. bot. T. I. 1887. p. 315—320. und T. II. p. 255) die auch bei uns häufige Blattfleckenkrankheit von jeher auf *Coryneum Beijerincki* zurückführten. Auch sonst ist der Pilz recht viel benannt und muß nach dem Prioritätsgesetze *Clasterosporium carpophilum* (Lev.) Aderh. heißen, da es nach den Abbildungen Leveillé's und meinen entsprechenden Beobachtungen nicht dem geringsten Zweifel unterliegt, daß er dem *Helminthosporium carpophilum* Lev., das Leveillé 1843 auf Pflirsich beschrieb (Ann. des sciences nat. T. XIX. p. 215), identisch ist. Diese und zahlreiche noch zu ergänzende Beobachtungen werden zusammen in einer monographischen Behandlung der *Clasterosporium*-Flecken des Steinobstes veröffentlicht werden.

4) Infektionen mit *Cladosporium Cerasi* (Rbh.) Aderh. Im vorigen Jahresberichte wurde auf die morphologische Gleichheit von *Cladosporium carpophilum* v. Thüm. und

Cladosporium (*Fusicladium*) *Cerasi* (Rbh.) Aderh. hingewiesen. Die Identität dieser Pilze und damit der von ihr erzeugten Krankheiten von Kirsche und Pfirsich wurden dieses Jahr durch Uebertragungsversuche zu erhärten versucht, in 1) *Cladosporium Cerasi* (Rbh.) Aderh. von einer Kirsche auf 5 etwa walnußgroße Pfirsiche am Baume und 2) *Cladosporium carpophilum* von Pfirsich, aus Amerika stammend, auf 10 Weichselfrüchte geimpft wurde und 3) 8 Tage später 3 Pfirsiche mit demselben *Cladosporium carpophilum* infiziert wurden. Alle Früchte erkrankten, aber das Resultat ist deshalb noch nicht ganz einwandfrei, weil 1) in dem Versuchsjahre *Cladosporium Cerasi* hierorts überhaupt sehr verbreitet war und nicht bloß auf beinahe allen, auch den nicht geimpften Früchten des Versuchsbäumchen auftrat, sondern auch auf anderen Bäumen und sogar auf einer runden Pflaume häufig gefunden wurde, und 2) weil die Erkrankung der Pfirsichfrüchte erst nach 4 Wochen bemerkbar, dann aber bis zum September hin auf allen ohne Ausnahme sehr ergiebig wurde. Es haftet also den Resultaten noch die Unsicherheit an, die im Freien ausgeführte Infektionen so häufig minderwertig macht. Leider standen tragende Topfbäumchen aber nicht zur Verfügung und gepflückte Früchte sind erfahrungsgemäß für diese Infektionen unbrauchbar. Wenn also eine Wiederholung der Versuche auch noch erwünscht sein muß, so habe ich doch persönlich aus meinen Resultaten die Ueberzeugung gewonnen, daß wir hier ein und denselben Pilz vor uns haben. Hinsichtlich seines Namens mag hier noch erwähnt werden, daß ein merkwürdiger Zufall es gewollt hat, daß zu etwa gleicher Zeit, wo ich *Fusicladium Cerasi* (Rabh.) Sacc. als in die Gattung *Cladosporium* gehörig erkannte (cf. letzten Bericht), Oudemans das *Cladosporium carpophilum* v. Thüm. umgekehrt in die Gattung *Fusicladium* versetzt hat (*Contributions to the knowledge of some undescribed or imperfectly known fungi*. 4. Part. Koninkl. Acad. v. Wetensch. te Amsterdam. Nov. 1900. p. 394). Der korrekte, nach dem Prioritätsgesetze geregelte Name muß *Cladosporium Cerasi* (Rbh.) Aderh. heißen, da der Pilz 1853 zuerst von Rabenhorst als *Acrosporium Cerasi* auf Kirschenfrüchten beschrieben worden ist (cf. Alexander Braun, Ueber einige neue oder weniger bekannte Krankheiten der Pflanzen, welche durch Pilze erzeugt werden. Berlin 1854. p. 16). Die zugehörige Perithezienform ist *Venturia Cerasi* Aderh.

5) Ueber einen der *Monilia*-Krankheit ähnlichen Krankheitsfall an einem Sauerkirschbaume ist eine längere Untersuchung angestellt worden, die in der Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. Bd. XI. p. 65—73 erschienen ist. Hervorgehoben ist die Krankheit durch ein bis dato unbekanntes *Fusarium*, das genauer beschrieben und abgebildet wird und *Fusarium gemmiperda* n. spec. genannt worden ist. Die Diagnose lautet:

Lagerchen anfangs schneeweiß, später schwach pfirsichblutrot, aber klein und bisweilen ganz fehlend, oberflächlich. Sporen an-

fangs 1-, später 3—5-, meist 4-zellig, hyalin, anfangs walzlich gekrümmt, später sichelförmig beidendig zugespitzt, 35—45 : 4—5^{1/2} μ .

Auf absterbenden Knospen von *Prunus Cerasus* im Frühjahr.

Das Krankheitsbild erinnert an die *Monilia*-Krankheit, indes sterben die Blütenbüschel schon während des Austreibens, längst bevor sich die Blüten entfalten, ab, und es fehlen im Baume dürre Laubtriebe ganz. Die Infektionskraft des Pilzes ist keine sehr große, doch gelang es, feucht gehaltene Blütentriebe entsprechenden Entwicklungszustandes innerhalb 4—5 Tagen durch Infektion zum Absterben zu bringen. Die Krankheit bietet ein treffendes Beispiel, wie sehr phytopathologische Erscheinungen vom Wetter abhängig sind, da sie auch im Freien nur in den sehr nassen Frühjahren von 1898 und 99, nicht im Jahre 1900, auftrat¹⁾.

6) Ueber braunen Schleimfluß an jungen Apfelbäumchen. Im Mai 1900 fand man an 3-jährigen Apfelbäumchen der hiesigen Baumschule gar nicht selten einzelne oder selbst mehrere Knospen eines Triebes nicht austreibend. Aus ihnen heraus floß eine braune, honigähnliche Masse, die, obschon zähflüssig, weit herabgeflossen war. Die durchschnittenen Knospen zeigten sich nur an ihrer äußersten Spitze abgestorben; Mitte und Grund waren gesund. In dem Saft bildeten Bakterien den Hauptflor, zu dem sich knorrige Mycelstücke und einzelne Sproßpilzzellen gesellt hatten.

Die ganze Erscheinung und auch der Flor sprachen dafür, daß man hier den von Ludwig (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. IV. 1888. p. 323 u. 453 u. Bd. VI. 1889. p. 134; Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. IX. p. 10 u. an anderen Orten) beschriebenen, braunen Schleimfluß des Apfels vor sich hatte. Ludwig hat denselben als eine gefährliche Krankheit hingestellt, indes haben die hiesigen Bäumchen, abgesehen davon, daß die befallenen Knospen nicht austrieben, nicht weiter darunter gelitten, so daß das Vorkommen für die kürzlich von Holtz (Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. VII. p. 113 ff.) vertretene Ansicht spricht, nach welcher der Schleimfluß nicht parasitärer Natur ist und nur infolge von Verletzungen auftritt als ein sekundär von Organismen beeinflusster Blutungssaft. Die Ursache der Verletzung war in dem hier berichteten Falle jedenfalls der Spätfrost von — 17° C, der anfangs April die schon relativ weit vorgeschrittene Vegetation betroffen hatte.

7) Morphologische Untersuchungen über den Pflaumenrost (*Puccinia Pruni Pers.*) (bearbeitet vom Assistenten Dr. Jacky). Ein gegen Herbst hierorts beobachtetes Auftreten des Pflaumenrostes gab Veranlassung zu dieser Studie. Es wurde nachgewiesen, daß die unter der Bezeichnung *Puccinia Pruni Pers.* zusammengefaßten Rostarten in zwei, allerdings nicht in allen Fällen, streng geschiedene

1) Im laufenden Sommer 1901 fand ich das *Fusarium* ganz vereinzelt auch auf reifen Früchten dieses Baumes.

Typen zerfallen. Der erstere derselben ist charakterisiert durch Teleutosporen, deren beide Zellen gleich groß, kugelig gerundet, stark gebräunt und mit stacheligen Warzen besetzt sind. Es ist dies die typische *Puccinia Pruni* Pers. Sie wurde von uns untersucht auf: *Prunus spinosa*, *Pr. domestica*, *Pr. insititia* und *Pr. Americana*; dagegen fand sie sich nicht auf *Persica vulgaris*, *Amygdalus communis* und *Armeniaca vulgaris*. Ein zweiter Typus, charakterisiert durch Teleutosporen, deren Scheitel zumeist verdickt, deren Basalzelle stets verschmälert, meist heller gefärbt als die Scheitelzelle und mit schwächeren Warzen besetzt ist, findet sich vorwiegend auf *Persica vulgaris*, *Amygdalus communis* und *Armeniaca vulgaris*. Nur selten treten auch auf *Prunus domestica*, *spinosa* oder *insititia* Teleutosporen vom letztgenannten Typus auf. Auf diese Charaktereigentümlichkeiten unseres Typus II gründete Fuckel seine *Puccinia discolor*. Im nächsten Jahre auszuführende Infektionsversuche sollen auch über das biologische Verhalten des Pilzes Auskunft erteilen, eventuell die Frage lösen helfen, ob es sich um zwei verschiedene Arten handelt oder ob vielleicht die morphologischen Unterschiede der beiden Typen einfach durch die Wirtspflanze bedingt sind oder gar klimatischen Einflüssen ihre Entstehung verdanken.

8) Der Chrysanthemum-Rost (bearbeitet von dem Assistenten Dr. Jacky). An der Hand von Infektionsversuchen wurde nachgewiesen, daß die seit einigen Jahren in verschiedenen Gärtnereien Deutschlands mehr oder weniger epidemisch auf *Chrysanthemum indicum* auftretende Rostkrankheit auf diese eine Nährpflanze spezialisiert ist. Der die Krankheit erzeugende Pilz, *Puccinia Chrysanthemi* Roze, tritt bei uns meist nur im Uredostadium auf. Eine morphologische Eigentümlichkeit dieses Pilzes bildet das Auftreten zweizelliger Uredosporen, die bisher bei keiner anderen Rostart beobachtet worden sind. Es wurde ferner nachgewiesen, daß die Uredosporen im Freien zu überwintern imstande sind und im Frühjahr die Ursache neuer Infektionen sein können. Die Identität unserer Pilzes mit dem in Japan auf *Chrysanthemum* auftretenden Roste erscheint wahrscheinlich, konnte aber noch nicht mit Sicherheit bewiesen werden. Die neuerdings von P. Hennings (*Hedwigia*. 1901 [25 u. 26]) beschriebene *Puccinia Chrysanthemi chinensis* dürfte daher nur ein Synonym von *Puccinia Chrysanthemi* Roze sein. Die Vorbeugungs- und Bekämpfungsmaßregeln bestehen im wesentlichen im Entfernen und Verbrennen befallener Blätter und Pflanzen sowie in der Aufzucht der der Krankheit am meisten Widerstand bietenden Kulturvarietäten. Eine ausführliche Abhandlung über diese Krankheit erschien in der Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Jahrgang 1900. p. 132—142.

9) Der Veilchenrost (bearbeitet vom Assistenten Dr. Jacky). Der die kultivierten wie wild wachsenden Veilchenarten (*Viola odorata*, *silvatica* u. a.) oft beträchtlich schädigende

Pilz *Puccinia Violae* (Schum.) DC. wurde in mehreren Infektionsversuchen in Bezug auf seine Entwicklungsgeschichte verfolgt. Dabei wurden die bisher bekannten Angaben bestätigt, nach welchen der Pilz zu den Aut-eu-Puccinien gehört, welche auf ein und derselben Nährpflanze Aecidien, Uredo- und Teleutosporengeneration entwickeln.

10) Zur Bekämpfung von *Uromyces caryophyllinus* (Schrank.) Schroet. des Nelkenrostes (bearbeitet vom Assistenten Dr. Jacky). Verschiedene Bekämpfungsmittel gegen den die Nelkenkulturen außerordentlich schädigenden Rostpilz wurden auf ihre Wirksamkeit geprüft. Da erfahrungsgemäß die Anwendung von Bordeauxbrühe gegen den Pilz resultatlos geblieben ist, handelte es sich darum, wirksamere Mittel ausfindig zu machen. Es gelangten folgende Fungicide zur Verwendung:

1) Schwefelkupfer (2 g Kupfervitriol, 2 g Schwefelleber zu 500 ccm Wasser).

2) Essigsaures Kupferoxyd ($1\frac{1}{2}$ g Essigsaures Kupfer zu 500 ccm Wasser).

3) Schwefelsäurelösung ($1\frac{1}{2}$ ccm Schwefelsäure zu 500 ccm Wasser).

4) Borsaures Zinkoxyd (3,9 g Zinksulfat, 3,9 g Borax zu 453 ccm Wasser).

5) Metaborsaures Kupferoxyd ($3\frac{1}{2}$ g Kupfervitriol, 9 g Borax zu 500 ccm Wasser).

Mit den 5 erwähnten Lösungen sowie mit deren Verdünnungen von $\frac{1}{2}$ und $\frac{1}{10}$ wurden Keimungsversuche mit Uredosporen von *Uromyces caryophyllinus* angestellt. Gar keine Keimung fand statt in Lösung 1 und deren beiden Verdünnungen, in Lösung 4 und Lösung 5, währenddem Lösungen 2 und 3 und deren Verdünnungen sowie die verdünnten Lösungen von 4 und 5 vereinzelte Sporenkeimungen zuließen. Zur Kontrolle in Wasser ausgesäte Sporen hatten zu 30–40 Proz. gekeimt. Als die Keimung verhindernde Mittel konnten also nur Lösungen 1, 4 und 5 in Betracht kommen. Mit diesen wurden Bespritzungen von rostkranken Nelken vorgenommen; da indes sowohl bei behandelten als auch bei nicht behandelten Kontrollpflanzen die meisten neugebildeten Sprosse gesund blieben, muß es zweifelhaft bleiben, inwieweit den Fungiciden ein günstiger Erfolg zugeschrieben werden kann.

11) Gezuckerte Bordeauxbrühe und die Bienenzucht (bearbeitet vom Assistenten Dr. Jacky). Nach Angaben einiger Bienenzüchter (cf. Prosk. Obstbau-Ztg. 1899. p. 64) soll die Verwendung gezuckerter Bordeauxbrühe zur Bekämpfung von Pilzkrankheiten unserer Kulturpflanzen für die Bienenzucht insofern von Schaden sein, als die Bienen, durch den Zuckergehalt der Brühe angelockt, dieselbe aufsaugen, um darauf, infolge von Kupfervergiftung, zu Grunde zu gehen. Um diese Angaben auf ihre Richtigkeit hin zu prüfen, wurden von Juni bis September 1900 verschiedene Versuche ausgeführt, bei denen teils ein als Versuchsvolk dienender Bienenschwarm direkt mit gezuckerter, vor der Verwendung karbonisierter Bordeauxbrühe (mit einem Zucker-

gehalte von 6 pro mille bis 6 Proz.) gefüttert wurde, teils verschiedene Bäume in einer Entfernung von 3—40 m vom Bienenstande mit gezuckerter Bordeauxbrühe (Zuckerzusatz 3 ‰ und 6 ‰) bespritzt wurden.

Dabei erwies sich, daß weder die den Bienen vorgeetzten Lösungen von diesen berührt oder aufgenommen, noch auch die gespritzten Bäume befliegen wurden. Da indes der Versuch erst Ende Juni begonnen worden war und das Versuchsvolk zudem aus einem schwächlichen Schwarme, der frühzeitig (September) weisellos wurde, bestanden hatte, so sollen die Versuche im kommenden Jahre fortgesetzt werden ¹⁾.

12) Bespritzungsversuche zur Fusicladienbekämpfung. In meinen „Fusicladien unserer Obstbäume“ habe ich von theoretischen Erwägungen aus besonderen Wert auf die winterliche Bekämpfung und auf die Bekämpfung dieser schlimmsten Feinde des Kernobstes schon in der Baumschule gelegt. Um beide Bekämpfungsmaßregeln nun auch praktisch zu erproben, wurde eine Versuchsserie an Apfelbäumchen eingeleitet derart, daß 1) einzelne Parzellen der Baumschule nur winterliche, andere winterliche und sommerliche, andere nur sommerliche, andere gar keine Behandlung erfahren und 2) daß eine Parzelle eines 1-jährigen Quartiers bis zum Verkaufe der Bäumchen jährlich eine Winter- und 3 Frühjahrsbehandlungen erfahren soll, um zu sehen, ob diese Bäumchen gegenüber nicht behandelten eine die Behandlung lohnende Förderung erfahren. Die amerikanischen Forscher haben zwar, wie in einer späteren ausführlicheren Mitteilung unserer Versuche zu finden sein wird, nach beiden Richtungen hin bereits Erfahrungen gesammelt, indes muß eine Nachprüfung für deutsche Verhältnisse trotzdem wünschenswert erscheinen.

Die Bespritzungen wurden im Berichtsjahre ausgeführt am 21. März (winterliche Behandlung), 5. Mai (Blätter gucken ca. 1 cm aus der Knospe), 28. Mai, 19. und 20. Juni. Die Natur der Hauptfragen bedingt, daß gültige Erfahrungen erst nach mehreren Jahren zu erwarten sind. Es mag daher nur kurz erwähnt werden, daß bis Mitte Juni zwischen allen Parzellen, gespritzten und ungespritzten, ein geringer Unterschied war, da bis dahin *Fusicladium* (entgegen anderen Jahren) weniger hervortrat. Von der 4. Bespritzung an wurde aber die Differenz auffälliger und hielt sich bis Ende Sommer, wenn auch nicht übermäßig augenfällig, zu Gunsten aller irgendwie behandelten Bäumchen. Unter letzteren waren die nur winterlich behandelten nur wenig mehr befallen als die sommer- und winterlich gespritzten, die nur sommerlich behandelten auf den älteren Blättern etwas mehr beschädigt als andere, aber auf den jüngeren etwas gesunder als die nur winterlich gespritzten.

1) Die im April 1901 erneuten Versuche ergaben wiederum dieselben Resultate wie im Vorjahre, so daß es als erwiesen gelten kann, daß die gezuckerte Brühe von den Bienen nicht befliegen wird, daß somit deren Anwendung unbeschadet den Interessen der Bienenzucht erfolgen kann.

Mit den Versuchen wurden eine Anzahl Nebenfragen verknüpft, die teils zu erneuter Klärung immer wieder auftauchender Meinungsdifferenzen dienen sollten, teils eine Verbilligung des fungiciden Verfahrens erstrebten. Ich hänge den Fragen hier die aus den letztjährigen Versuchen erhaltene Antwort an: 1) Läßt sich für die winterliche Behandlung ohne Schaden für die Bäume eine einfache Kupfervitriollösung verwenden? Wir haben von unserer Behandlung mit $\frac{1}{2}$ -proz. Kupfervitriollösung weder bei Aepfeln noch bei Birnen irgendwelche Beschädigungen gesehen. 2) Kann die 2-proz. Bordeauxbrühe wenigstens für die sommerliche Behandlung durch eine 1-proz. Bordeauxbrühe ersetzt werden? Auch das dürfte nach unseren diesjährigen Resultaten angängig sein. 3) Ist der Zuckerzusatz zur Bordeauxbrühe wirklich von Wert? Die gezuckerte Brühe ergab weder eine auf die Dauer bessere Haftung noch bessere Erfolge als die entsprechende Bordeauxbrühe. 4) Ist Kupfersodabruhe der Bordeauxbrühe vorzuziehen? Bei den Versuchen hatten alle gespritzten Parzellen (namentlich die zwischengepflanzten Kirschen) etwas gelitten, wahrscheinlich weil am 5. Mai bei sehr heißem, sonnigem Wetter gespritzt wurde. Diese Beschädigungen waren mit der Sodabruhe bedeutender und besonders an Aepfeln auffälliger als mit den anderen Brühen. Auch war der fungicide Erfolg eher geringer denn besser. 5) Wirkt Eisenzusatz auf die Vegetation des Apfels günstig? Die Versuche zeigten keine deutliche Förderung, was aber nur der Thatsache entspricht, daß man beim Apfel eine physiologische Wirkung der Bordeauxbrühe überhaupt nicht in dem Maße beobachten konnte, wie bei günstigeren Versuchsobjekten, z. B. Birne und Rebe.

13) Ein paar Versuche zur Vertilgung des Unkrautes im Gartenrasen. Die in der Landwirtschaft bei Vertilgung des Unkrautes in Getreidefeldern mit Eisenvitriollosungen erzielten Erfolge gaben Veranlassung, zu prüfen, ob sich solche Lösungen nicht auch zur Reinhaltung des Gartenrasens verwenden ließen. Es wurden daher stark verunkrautete Rasenstucke am 11. Mai und (nach Schnitt des Rasens) am 13. Juni mit 15-proz. Eisenvitriollösung mittels Rebspritze gespritzt. Es litten *Bellis*, *Leontodon taraxacum*, *Veronica*-Arten, *Sonchus spec.*, *Lamium purpureum* stark, *Symphytum* und *Aegopodium* schwächer, aber es schlugen die ausdauernden Arten (*Bellis*, *Leontodon* etc.) auch nach der zweiten Behandlung wieder aus, und da auch die Gräser (zumeist *Lolium* und *Cynosurus*) nicht ganz unbeschädigt blieben, wird bezweifelt, daß mit dem Verfahren ein dauernder Erfolg zu erzielen ist. Immerhin wurde die Blüte von *Leontodon* und *Bellis* und anderen Arten gestört resp. gehemmt und so wenigstens die Samenverbreitung erheblich gemindert. Ob mit den neuerdings von Heinrich empfohlenen Chilisalpeterbespritzungen mehr zu erreichen ist, soll im kommenden Jahre geprüft werden (vergl. Proskauer Obstbau-Ztg. 1900. p. 123).

Referate.

Kaerger, Landwirtschaft und Kolonisation im spanischen Amerika. 2 Bände. 8°. 1682 p. Leipzig (Duncker u. Humblot) 1901. Preis 42,80 M.

Professor Kaerger, der von 1895—1900 als landwirtschaftlicher Sachverständiger bei der deutschen Gesandtschaft in Buenos-Aires thätig war, hat seine reichen Erfahrungen, die sich naturgemäß hauptsächlich auf Landwirtschaft und Volkswirtschaft beziehen, in vorliegendem Werke niedergelegt. Es finden sich in letzteren verstreut aber auch eine ganze Reihe Notizen über Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, von denen wohl als die wichtigsten folgende hervorgehoben seien:

Schädigungen der Vegetation durch ungünstige klimatische Verhältnisse, wie Dürre, starke Regenfälle, Hagel, Frost, kalte Nebel etc. spielen auch in den vom Verf. bereisten Gegenden, den La Platastaaten, den südamerikanischen Weststaaten und Mexiko, eine große Rolle. Bezüglich der Nebel herrscht in der Provinz Buenos-Aires einerseits die Ansicht, daß die Aehren, speziell des Weizens, durch denselben sehr naß werden, und daß die noch milchigen Körner dann, wenn die Feuchtigkeit im Laufe des Vormittags schnell schwindet, plötzlich durch die heiße Sonne getroffen und dadurch gewissermaßen verbrannt werden und zusammenschrumpfen, während andererseits behauptet wird, daß mit diesen so gefährlichen Nebeln stets eine Abkühlung unter Null verbunden sei, so daß Frost und schnelles Auftauen den Schaden verursachen. Spätfröste sind ebenfalls sehr gefürchtet. In Mexiko hat besonders der Zuckerrohrbau darunter zu leiden. Geringere Kälteeinflüsse — Temperaturen von etwa + 2 bis 3° — sind weniger gefährlich, denn die Pflanzen werden nur blaß, müssen freilich schnell geschnitten werden, da sie sonst verderben, aber durch eigentlichen Frost — Temperaturen unter 0° — wird das Rohr schwarz und rissig und für die Zuckergewinnung unbrauchbar. Man sucht sich auf verschiedene Weise vor Kältebeschädigungen zu schützen z. B. bei dem Zuckerrohr durch Zusammenbinden der Endblätter, Entwicklung von Rauch, durch Ziehen von Gräben und starke Bewässerung, sowie durch Uebererdung der Pflanzen; letzteres wird speziell bei der Baumwolle angewendet.

Von ungünstigen Bodeneinflüssen seien an dieser Stelle nur die über weite Strecken sich hinziehenden undurchlässigen Bodenschichten erwähnt, die nicht nur den Luzern-, sondern auch den Getreidebau stellenweise unmöglich machen.

Bezüglich der Perchloratfrage ist Verf. der Ansicht, daß sie beseitigt sei, nachdem der exportierte Salpeter in Valparaiso auf das etwaige Vorhandensein genannter Verunreinigung untersucht und das Perchlorat kaufmännisch verwertet wird.

Tierischer Schädlinge wird an verschiedenen Stellen gedacht, so z. B. auch der Heuschrecken, die in der Provinz Entre Rios be-

sonders schlimm aufzutreten scheinen. In Buenos-Aires suchen sie meist nur den Norden heim, und zwar zu einer Zeit, wenn die Weizenkörner schon eine beträchtliche Härte haben, so daß sie diesen dann nicht vielmehr schaden können. Um so größere Verheerungen richten sie aber in den dortigen Maisfeldern an. — Ein speziell in den höheren Gegenden vorkommendes hasengroßes Nagetier — Viscacha — was den Boden stark durchwühlt und sich mit Vorliebe von Weizenpflanzen nährt, soll, nachdem man ihm in den letzten Jahren allgemein sehr nachgestellt, mehr verschwunden und nicht mehr eine solche Landplage wie früher sein.

Ueber das Auftreten von Rost finden sich mehrfach interessante Notizen. So spielt derselbe zwar auch in Argentinien eine große Rolle, soll jedoch nicht überall gleich heftig, sondern namentlich in feuchten Gegenden auftreten, sich in der Provinz Buenos-Aires gewöhnlich nach starken Nebeln im Oktober einstellen, und zwar namentlich auf dichtbestandenen Feldern, die er dann in kurzer Zeit oft so vernichtet, daß sie überhaupt keinen Ertrag geben. In Mexiko sind der Grannenweizen und eine braun gefärbte Art dem Rost mehr ausgesetzt als der „weiße“. Gegen den Brand weiß man sich in Argentinien im allgemeinen durch Beizung der Saat mit Kupferpräparaten zu schützen, während derselbe sich in Mexiko nach des Verf. Angaben überhaupt erst in den letzten Jahren stellenweise im Weizen gezeigt haben und in Chile trotz Saatgutbeize auf solchen Landflecken auftreten soll, die längere Zeit unter Wasser gestanden haben, was freilich bei der Art der dortigen Ackerbearbeitung zu den Seltenheiten nicht zu gehören scheint.

Krankheitserscheinungen, die an Kaffee, Kakao, Vanille, Zuckerrohr etc. auftreten, werden ebenfalls verschiedentlich erwähnt und kurz besprochen.

Besonders hervorgehoben sei noch die vielfach in den vom Verf. bereisten Gegenden verbreitete Ansicht, daß der Mond auf das Leben der Pflanzen einen großen Einfluß hat, und daß sich an den Pflanzen allerlei Krankheitserscheinungen einstellen, wenn sie bei zunehmendem Mond verletzt werden, was mit dem alsdann stattfindenden stärkeren Saftfluß zusammenhängen soll.

Krüger (Berlin).

Einundzwanzigste **Denkschrift** betreffend die Bekämpfung der Reblauskrankheit 1898. Bearbeitet im Kaiserl. Gesundheitsamt. 1900. 209 p. und 4 Blatt Karten.

I. Organisation der Reblausbekämpfung.

Nach der 20. Denkschrift beliefen sich die von den Bundesregierungen bis zum Schluß des Etatsjahres 1896/97 aufgewendeten Kosten auf 6909182 M. Im Etatjahr 1897/98 betragen die Kosten 1186728 M. Außerdem sind seitens des Reiches seit 1879/80 bis zum Schlusse 1897/98 rund 59000 aufgewendet worden.

II. Stand der Reblauskrankheit im Reiche.

1) Preußen. In der Rheinprovinz hatten die Revisionen der Reblausherde ein günstiges Ergebnis, nur auf wenigen Herden

wurden an den Rebwurzelresten noch lebende Rebläuse beobachtet und war nochmalige Desinfektion nötig; es konnte eine Anzahl früherer Herde für den Anbau von Feld- und Gartenfrüchten freigegeben werden. Die näheren Untersuchungen ergaben 21 Reblausherde mit 1632 befallenen Reben. Vernichtet wurden insgesamt 55501 Reben. In der Provinz Hessen-Nassau ergab die Revision früher vernichteter Reblausherde durchaus ein Fehlen von Reblausresten. In den schon früher als verseucht bekannten Gemarkungen St. Goarshausen, Bornich, Lorch, Biebrich, Diedenbergen wurden 26 Reblausherde konstatiert. In der Provinz Sachsen fanden sich 38 Herde.

2) Bayern. Auch 1898 konnte die Reblaus in der Pfalz nur in der bereits früher befallenen Gemarkung Sausenheim aufgefunden werden.

3) Königreich Sachsen. In den Gemarkungen Cossebaude, Oberwartha, Brabschütz, Lindenau, Niederlößnitz wurden 1898 70 neue Herde auf insgesamt 1,1083 ha Weinbergsfläche aufgefunden; in den desinfizierten Herden waren die Rebläuse verschwunden.

4) Württemberg. Nur auf einzelnen Stellen der Gemarkungen Kochendorf, Niedernhall und Criesbach hatte die Desinfektion unvollkommen gewirkt. 1898 wurden 22 neue Herde mit 100 befallenen Reben in den Gemarkungen Nekarsulm, Oedheim, Niedernhall, Criesbach, Neckarvechingen aufgefunden. Vernichtet wurden insgesamt 3788 Reben auf einer Gesamtfläche von 44,50 ar.

5) Elsaß-Lothringen. Auch 1898 fanden sich keine neuen Herde in den Gemarkungen Bollweiler, Lutterbach, Pfastatt, Hegenheim, während solche in Thann, Alt-Thann, Steinbach, Rufach ermittelt wurden. In Lothringen wurden in bis dahin als nicht verseucht betrachteten Gebieten Reblausherde ermittelt in den Gemarkungen Borny, Jouy-aux-Arches, Nouilly, Novéant, Plantières-Queuleu, Reimeringen, in früher verseuchten Gemarkungen wurden mehr oder weniger zahlreiche Reblausherde aufgefunden.

III. Die Thätigkeit der Rebenveredelungsstationen in Preußen im Jahre 1898.

Eine besondere Anlage giebt hierüber näheren Bericht.

IV. Beobachtungen und Versuche über das biologische Verhalten der Reblaus.

Unter unseren klimatischen Verhältnissen tritt die geflügelte Form der *Phylloxera vastatrix*, wenigstens in verhältnismäßig warmen und trockenen Herbstern bis in den Oktober hinein, und vielleicht noch später auf. Ihre Größe ist erheblichen Schwankungen unterworfen, bei der überwiegenden Mehrzahl haben die geflügelten Läuse etwas über 1 mm Länge. Die Nachkommen der geflügelten Rebläuse waren nur Weibchen, die 14–26 Tage nach der Eiablage den Platz verließen. Die Eier waren 0,26 bis 0,37 mm lang und 0,12–0,20 mm breit. In Weinbergen wurden auch geflügelte Exemplare der Eichenphylloxera, *Ph. coccinea*,

gefunden, die in Deutschland große Verbreitung haben (Berlin, Provinz Sachsen, am Rhein, an der Ruhr, bei Großhennersdorf a. d. Nied, an der mecklenburgischen Ostseeküste). Die zur Vertilgung der Rebläuse empfohlene „neutralisierte Benzolinlösung“ erwies sich als unwirksam.

V. Stand der Reblauskrankheit im Auslande.

1) Frankreich. 1898 wurden 20 Gebiete als von der Reblaus befallen erklärt, die Zahl der Departements, Arrondissements, Kantone und Gemeinden, in die die Einfuhr von Reben jeder Herkunft erlaubt ist, nahm beträchtlich zu. 1897 nahmen 365 Gemeinden mit einer Gesamtfläche von 31 276 ha zum erstenmal an dem Erlasse der Grundsteuer im Betrage von 1 576 075 frcs. teil. Seit Inkrafttreten des Gesetzes vom 1. Dezember 1887 wurden auf Grund derselben Grundsteuer Vorschüsse bewilligt in 10 080 Gemeinden für eine Fläche von 4 564 30 ha im Betrage von 20 910 099 frcs.

Nach der amtlichen Enquete von 1897 waren 833 248 ha mit zum größten Teil amerikanischen Reben wiederbepflanzt. 38 911 ha unterlagen dem Ueberschwangsverfahren und 48 953 ha wurden mit insektentötenden Mitteln behandelt; darunter 35 293 ha mit Schwefelkohlenstoff und 13 660 ha mit Kaliumsulfokarbonat. Die Flächen, auf denen der Kampf noch mit insektentötenden Mitteln geführt wird, sind in der Abnahme begriffen. Die Wiederherstellung der Weinberge vermittelst der widerstandsfähigen amerikanischen Reben gewinnt ständig an Ausdehnung. Die unmittelbar tragenden Reben wurden immer mehr aufgegeben. Gegen die Black-Rot-Krankheit werden gegenwärtig in verschiedenen Departements eine Anzahl unmittelbar tragender Hybriden versucht. Als Veredelungsunterlagen werden jetzt in frischen, reichen, wenig kalkhaltigen Böden fast ausnahmslos *Riparia Gloire de Montpellier* und *Riparia Grand Glabre* verwendet, für steinige und trockene Böden *Rupestris Martin* und *Rupestris Du Lot*, auch *Riparia rupestris* und *Aramon-Rupestris Gauzin*, *Solonis* nur noch in feuchten und kalkhaltigen Böden. Nach den Versuchen der Weinbauschule zu Montpellier besitzen die Bastarde zwischen Amerikanern, wie *Riparia × Rupestris*, *Cordifolia × Rupestris*, *Cinerea × Rupestris*, *Riparia × Berlandieri*, *Rupestris × Berlandieri* eine gute Widerstandsfähigkeit gegen die Reblaus, wenn auch geringer als *Riparia* oder *Rupestris* allein. Die Bastarde zwischen französischen und amerikanischen Reben stehen dagegen zurück.

In Algerien ist da, wo der Kampf gegen die Reblaus energisch geführt wurde, Stillstand eingetreten. Das Departement Algier gilt noch für reblausfrei, dagegen wurde die Reblaus in den bedeutenden Weinbergen von Kléber (Departement Oran) und Bône (Departement Constantine) entdeckt.

2) In Spanien hat die Ausbreitung der Reblaus in den meisten Provinzen weitere Fortschritte gemacht. So betrug auf dem 8000 ha umfassenden Weinbaugebiet von Jerez de la Frontera 1895

die Gesamtfläche der Reblausherde 30—40 ha, 1897 bereits 2600 ha, wovon die Hälfte vollständig verloren war. In der Provinz Malaga sind alle Teile des Weinbaugebietes befallen, in der Provinz Gerona mit früher 40000 ha Weinbergfläche sind alle alten Weinberge zu Grunde gegangen, in der Provinz Barcelona sind von 130000 ha nur 5000 übrig, die aber ebenfalls befallen sind, in der Provinz der Balearen sind von 20355 ha nur noch 11098 ha Weinbergfläche vorhanden. Vielfach hat man die Weinbauflächen mit amerikanischen Reben wiederbepflanzt. Im ganzen sind nach den neuesten amtlichen Mitteilungen von 1899 in Spanien gesund und verseucht: 731077 ha, verseucht 170935 ha, mit amerikanischen Reben bepflanzt 50581 ha.

3) Schweiz. Die Untersuchungsarbeiten von 1897 ergaben wieder eine Anzahl neuer Reblausherde, von denen der größte Teil auf Oberembrach fiel. In Pfungen hat die Zahl der Reblausherde nicht abgenommen, wohl aber die der verseuchten Reben. Die Gesamtergebnisse der Wurzeluntersuchungen in den übrigen von der *Phylloxera* heimgesuchten Gemeinden fielen fast durchweg günstiger aus als im Jahre 1896.

4) Italien. Die Reblauskrankheit hat 1898, besonders in Süditalien und Sicilien, zum Teil auch in Sardinien bedauerliche Fortschritte gemacht. Die Zahl der verseuchten Gemeinden betrug hier am 31. Dezember 1896 391, bis Ende November 1898 468. Am stärksten hat die Seuche in den Provinzen Catanzaro und Messina zugenommen. In Sicilien sind 160000 ha Weinland im Werte von 160000000 Lire von der Reblaus zerstört. 86000 ha davon befallen. Der Staat stellt 1000000 Lire zur Bekämpfung der Reblausseuche zur Verfügung, da jedoch die Zahl der verseuchten Gemeinden in ganz Italien bereits auf 700 gestiegen ist und die durch Rebläuse verseuchte Fläche schon 350000 ha beträgt, so reichen die vorhandenen Mittel zu einer wirksamen Bekämpfung des Uebels nicht ans. Das Bestreben, die einheimischen Reben durch widerstandsfähige amerikanische zu ersetzen, macht sich in Italien immer mehr geltend.

5) Oesterreich. Das niederösterreichische Infektionsgebiet umfaßte anfangs 1897 13 Gemeindegebiete, seitdem sind bis 1898 12 neue hinzugekommen. Bei der Kultur veredelter amerikanischer Reben traten viele Mißerfolge zu Tage, namentlich wohl wegen der für die vorherrschenden Bodenarten und die ungünstigen klimatischen Verhältnisse der letzten Jahre wenig geeigneten, verwendeten Unterlagssorten. In Steiermark, Krain, Istrien, Dalmatien geht die Wiederherstellung der Weinberge viel glatter vor sich.

In Ungarn wurden 1898 von 19 Gemeinden der Tokay-Hegyallja in den wiederhergestellten Weinbergen 14160 hl Wein geerntet. In 12 Hegyalljaer Ortschaften liegen die verfallenen Weingärten noch brach oder man beginnt erst jetzt wieder zu rigolen, an 14 Orten wurden 1898 neue Herde aufgefunden. 1897 wurden zur Bekämpfung der Seuche 346392 Gulden verausgabt.

In Siebenbürgen wurde die Reblaus 1898 neu ermittelt.

In Kroatien, Slavonien betrug 1885 die Weinbaufläche noch 118363 Katastraljoch mit einem Durchschnittsertrag von 1,5 Mill. hl Wein im Werte von rund 16 000 000 Gulden. 1872 wurde zuerst das Auftreten der Phylloxera, 1897 das der *Peronospora viticola* konstatiert. 1896 betrug die im Ertrag stehende Fläche nur noch 32724 Joch mit 139984 hl Ertrag. Rechnet man 4688 Joch wiederbepflanzter Weingärten ab, so ergibt sich, daß Reblaus und *Peronospora* in 11 Jahren 68,4 Proz. der Weingärten völlig vernichtet haben.

6) Rußland. Die Thätigkeit des kaukasischen Reblauskomitees war 1897 vorzugsweise darauf gerichtet, die unversehrt gebliebenen Gegenden zu schützen und den Anbau widerstandsfähiger amerikanischer Sorten zu fördern. In vielen Teilen Rußlands hat man die Bekämpfungsversuche aufgegeben. Vielfach werden amerikanische oder transkaukasische Sorten angebaut. In der Rebschule zu Ssakari ist die Sammlung der amerikanischen und transkaukasischen Sorten vervollständigt worden. Gegen Ende des Berichtsjahres waren 18 amerikanische Sorten, 17 amerikanische und 25 amerikanisch-französische Hybriden, eine asiatische sowie 55 transkaukasische und europäische Sorten dort angepflanzt.

7) Rumänien. 1897 gab es in Rumänien in 2005 Gemeinden rund 196786 ha Weingärten gegen 189103 ha im Jahre 1895, wovon 49793 ha in 388 Gemeinden und 22 politischen Bezirken von der Reblaus befallen waren; frei von der Reblaus erschienen noch 146993 ha in 1617 Gemeinden. Von den 32 politischen Bezirken Rumäniens konnten 1897 nur noch 10 als von der Reblaus ganz verschont angesehen werden. Mit amerikanischen Reben bepflanzt waren 1897 933 ha gegen 513 ha im Jahre 1895.

8) In Serbien waren 1897 befallen oder zerstört 57915 ha, für reblausfrei galten noch 35226 ha. Vor dem Erscheinen der Reblaus besaß Serbien 93142 ha Weinberge. Es sind somit bis 1897 62,18 Proz. der Weinberge von der Reblaus heimgesucht worden, 37,52 Proz. davon freigeblieben. Neu angelegt wurden mit amerikanischen Reben 796 ha, mit europäischen Reben 403 ha.

9) In Bulgarien wurde 1896 ein Gesetz über die gegen die Reblaus zu ergreifenden Maßregeln und die Wiederherstellung der verwüsteten Weinberge erlassen.

10) Türkei. In Palästina trat die Reblaus zum erstenmal 1897 bei Caiffa auf. Bis zum Herbst 1898 betrug die zerstörte Fläche 75 ha, die befallene Fläche etwa 200 ha.

11) Amerika. In der Republik Uruguay sucht man dem Reblauschaden durch Anpflanzung nordamerikanischer Rebenarten entgegenzutreten. In Chile fehlte die Reblaus 1898 in der Provinz Aconcagua.

12. Australien. In Neusüdwaales trat die Reblaus 1897 und 1898 nur hin und wieder an einigen Reben auf; in Victoria hat sie größere Verwüstungen angerichtet, in Neuseeland wurde sie 1898 in einem kleinen Weingarten entdeckt. In Südastralien wurde sie noch nicht bemerkt.

Ludwig (Greiz).

Pierce, N. B., Peach leaf curl. (U. S. Department of Agriculture. Bull. No. 20. 1900. p. 1—204. Mit 30 Tafeln und 10 Textfiguren.)

Die Kräuselkrankheit der Pflirsiche (verursacht durch *Exoascus deformans*) ist über die ganze Erde verbreitet und verursacht zuweilen bedeutenden Schaden.

Feuchte Luft begünstigt sehr das Umsichgreifen der Krankheit, weshalb die betreffenden Obstgärten in trockenen und luftigen Gegenden angelegt werden sollten. Die Infektion erfolgt im Frühling in der Regel durch Sporenanflug (und nicht durch ausdauerndes Mycel), weshalb die Behandlung mit Kupfermitteln sehr erfolgreich ist.

Ein großer Teil des Buches ist erfüllt mit praktischen Vorschriften für die Behandlung der kranken Bäume und prophylaktischen Maßregeln, Spritzensysteme, Zeit der Behandlung, Unkosten etc. Neger (München).

Dorsett, P. H., Spot disease of the violet. (U. S. Department of Agriculture, Bull. No. 23. 1900. p. 1—16.)

Die Fleckenkrankheit der Veilchen, welche sich in der Bildung gelber, ovaler bis kreisrunder Flecken auf den Blättern äußert, wird verursacht durch *Alternaria violae* Galloway et Dorsett. Der Erkrankung unterliegen vorzugsweise schwächliche Exemplare, sowie solche, die unter ungünstigen Lebensbedingungen (zu feuchter oder zu trockener Boden) aufgewachsen sind.

Zur Bekämpfung der Krankheit empfiehlt Verf. eine Reihe von Maßregeln, welche hauptsächlich in sorgfältiger Pflege der Pflanzen (Entfernung der alten kranken Blätter etc.) gipfeln. 7 vorzüglich ausgestattete Tafeln illustrieren die Ausführungen des Autors. Neger (München).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. ARTHUR WÜRZBURG,
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Untersuchungsmethoden, Instrumente u. s. w.

Pitfield, B. L., Ammonium persulphate solution. A new decolorizing fluid for staining spores and sputum. (Philad. med. Journ. 1901. No. 18. p. 872.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

v. Aigner-Abafi, L., *Nemeophila Metelkana* Ld. (Allg. Ztschr. f. Entomol. 1901. No. 10. p. 153—154.)

Barth, G., Ueber die Wirkung der Hopfenbitterstoffe auf verschiedene Sarcinorganismen. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. 1901. No. 23. p. 333—335.)

de Bock, M., Observations anatomiques et histologiques sur les Oligochètes, spécialement sur leur système musculaire. (Rev. suisse zoolog. T. IX. 1901. Fasc. 1. p. 1—41.)

Bokorny, Th., Beobachtungen über das Invertin und die Maltase in der Hefe (Chemiker-Ztg. 1901. No. 47. p. 502—504.)

- Bokorny, Th.**, Tierische Diastase. (Allg. Brauer- u. Hopfen-Ztg. 1901. No. 108. p. 1249.)
- Bounhiol**, Recherches expérimentales sur la respiration des Annélides. Etude du Spirographis Spallanzanii. (Compt. rend. de l'Acad. d. scienc. T. CXXXII. 1901. No. 22. p. 1348—1351.)
- Brumpt, E.**, Reproduction des hirudinées. (Mém. de la soc. zool. de France. T. XIII. 1901. Part 4. p. 286—430.)
- Buchner, E. u. Bapp, E.**, Alkoholische Gärung ohne Hefezellen. (Ber. d. dtsehen chem. Gesellsch. 1901. No. 8. p. 1523—1530.)
- Eijkman, C.**, Ueber Enzyme bei Bakterien und Schimmelpilzen. (Centralbl. f. Bakteriolog. etc. I. Abt. Bd. XXIX. 1901. No. 22. p. 841—848.)
- Frede, G.**, Die Herstellung von milchsauerm Hefengut. (Ztschr. f. Spiritusindustrie. 1901. No. 25. p. 263.)
- Guilliermond**, Etude sur le développement et la structure de l'Oidium lactis. (Rev. génér. de botan. 1900. No. 144. p. 465—479.)
- Guilliermond, A.**, Recherches histologiques sur la sporulation des levures. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXII. 1901. No. 19. p. 1194—1196.)
- Jacquemin, G.**, Procédé de préparation de levures basses de brasserie fermentant à haute température. (Compt. rend. de l'Acad. d. scienc. T. CXXXII. 1901. No. 22. p. 1366—1367.)
- Jørgensen, A.**, Die Hefe in der Praxis. Anwendung und Untersuchung der Brauerei-, Brennerei- und Weinhefe. 8°. VIII, 104 p. m. 11 Abbildgn. Berlin (Paul Parey) 1901. 2,50 M.
- Kolkwitz, E.**, Zur Biologie von Leptomitus lacteus. (Ber. d. dtsehen botan. Gesellsch. 1901. Heft 4. p. 288—291.)
- v. Linstow**, Beobachtungen an Helminthen des Senckenbergischen naturhistorischen Museums des Breslauer zoologischen Instituts und anderen. (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LVIII. 1901. Heft 1. p. 182—198.)
- Simond, P. L.**, Contribution à l'étude des hématozoaires endoglobulaires des reptiles. (Annal. de l'Institut. Pasteur. 1901. No. 5. p. 319—351.)
- v. Speschnow, N. N.**, Beiträge zur Kenntnis der Pilzflora des Kaukasus. III. Fungi parasitici transcaucasici novi aut minus cogniti. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XI. 1901. Heft 2/3. p. 82—89.)
- Stiles, Ch. W.**, Notes on parasites. 56. Echinostomum bursicola Looss and E. cloacinum Braun, from a nomenclatural standpoint. (Science. 1901. N. S. Vol. XIII. No. 328. p. 593—594.)
- Will, H.**, Hefewasser zur biologischen Analyse. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. 1901. No. 20. p. 289—291.)
- Zaubitzer, H.**, Studien über eine dem Strohinfus entnommene Amöbe. (Arch. f. Hygiene. Bd. XL. 1901. Heft 2. p. 103—142.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft und Wasser.

- Hünemann u. Deiter**, Ueber die Desinfektion des Trinkwassers mit Natriumhypochlorit. (Dtsche med. Wehschr. 1901. No. 24. p. 391—393.)
- Schüder**, Ueber das Schumburg'sche Verfahren der Wasserreinigung mittels Brom. (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XXXVII. 1901. Heft 2. p. 307—322.)
- Smith, E. G.**, Contribution to the bacterial flore of Sydney water-supply. I. (Proceed. of the Linnean soc. of New South Wales. Vol. XXV. 1901. Part 3.)

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

- Kister, J.**, Ueber Gesundheitsschädlichkeit der Borsäure als Konservierungsmittel für Nahrungsmittel. (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XXXVII. 1901. Heft 2. p. 225—240.)
- Krauss, A.**, Ueber die Infektionsfähigkeit und Desinfektion von gebrauchten Büchern. (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XXXVII. 1901. Heft 2. p. 241—249.)

Fleisch.

- Tumpowski, A.**, Von der bakteriologischen Untersuchung des Fleisches in den Läden und Fleischbänken von Lodz. (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XXXVII. 1901. Heft 2. p. 278—282.)

Bier, Brauerei.

Reichard, A., Versuche über Akklimatisation von Sarcina-Organismen an den Brauereibetrieb. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. 1901. No. 21—23. p. 301—305, 317—322, 335—338.)

Wein, Weinbereitung.

Kayser, E. et Barba, G., Sur l'acidité des vins. (Rev. de viticult. 1901. No. 386, 387. p. 509—512, 541—545.)

Wesler, J., Ueber das Wiedertrübwerden der Weine. (Wechbl. d. landwirtsch. Ver. im Großherzogt. Baden. 1901. No. 23. p. 349—350.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

Schöne, A., Die Mikroorganismen in den Säften der Zuckerfabriken. (Ztschr. d. Ver. d. dtsh. Zuckerindustrie. 1901. Lfg. 544. p. 453—468.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

Jacobitz, Ueber desinfizierende Wandanstriche. (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XXXVII. 1901. Heft 1. p. 70—114.)

Launay, F., Réflexions sur l'épuration bactérienne des eaux d'égout. (Rev. d'hygiène. 1901. No. 5. p. 406—412.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitssergende Bakterien und Parasiten.

Aderhold, Ein der Moniliakrankheit ähnlicher Krankheitsfall an einem Sauerkirschbaume. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XI. 1901. Heft 2/3. p. 65—73.)

Arnstadt, A., Bekämpfung des Hederichs. (Dtsh. Landwirtschafts-Ztg. 1901. No. 21. p. 121.)

Arthold, M., Ueber das Auftreten der Pflanzenmilbe (*Tetranychus telarius*) in den Weingärten. (Weinlaube. 1901. No. 22. p. 256.)

Chiappari, P., Metodi essenziali di coltivazione preventiva contro le malattie e gli insetti che rovinano le preziose piante dell'olivo, del gelso e della vite coll'aggiunta della selvicoltura quale aureo fondamento pel nuovo secolo 1901. 8°. 82 p. Cremona (Tip. Interessi Cremonesi) 1900. 1,50 £.

Cholodkovsky, N., Aphidologische Mitteilungen. (Zool. Anzeiger. 1901. No. 643. p. 292—296.)

Dern, Ueber die Anpflanzung amerikanischer Reben als Schutzmittel gegen die Reblauskrankheit. (Amtsbl. d. Landwirtsch.-Kammer f. d. Reg.-Bez. Wiesbaden. 1901. No. 21. p. 178—180.)

Grandeau, L., Destruction des sanves. Expériences de M. Duserre sur l'emploi simultané du nitrate de soude et du sulfate de cuivre. (Journ. d'agricult. prat. 1901. No. 21. p. 658—661.)

Jahresbericht des Sonderausschusses für Pflanzenschutz 1900. Bearb. von den Inhabern der Auskunftsstellen für Pflanzenschutz: Brick, Edler, Eidam etc., sowie der biolog. Abt. f. Land- u. Forstwirtschaft am kaiserl. Gesundheitsamt Berlin u. einer Anzahl von Landwirtschaftsbeamten u. Landwirtschaftslehrern, zusammengestellt von **Sorauer u. Hollrung**. (Arb. d. dtsh. Landwirtsch.-Gesellsch. 1901. Heft 60.) gr. 8°. XXI, 315 p. Berlin (Paul Parey) 1901. 2 M.

Johnson, W. G., *Aphelinus fuscipennis* an important parasite upon the San José scale in Eastern United States. (31. ann. rep. of the entomol. soc. of Ontario 1900. Toronto 1901. p. 103—105.)

Kobus, J. D., Beschouwingen over het wortelrot (Dongkellanziekte). (Mededeel. van het proefstat. Oost-Java. 3. ser. No. 25. Overgedr. uit het Arch. v. de Java-suikerind. 1901. Af. 7/8.) 8°. 11 p. Soerabaia 1901.

Lafaye du Roc, Notice sur les maladies de la vigne et des arbres fruitiers. 16°. 8 p. Angoulême (Impr. Despoujols) 1900.

Lochhead, W., A plea for the systematic and economic study of the forest insects of Ontario. (31. ann. rep. of the entomol. soc. of Ontario 1900. Toronto 1901. p. 34—37.)

Malerba, C., La peronospora ed i mezzi di combatterla. 64 p. 16 fig. Catania (Tip. La Sicilia) 1900. 1 £.

- Peglion, V.**, Ueber den Parasitismus der Botryosporiumarten. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XI. 1901. Heft 2/3. p. 89—92.)
- Sajó, K.**, Meteorologische Ansprüche von Oidium Tuckeri und Peronospora viticola. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XI. 1901. Heft 2/3. p. 92—95.)
- Salmon, E. S.**, Der Erdbeer- und der Stachelbeer-Mehltau (Sphaerotheca Humuli [DC.] Burr. und S. mors-uvae [Schwein.] Berk u. Curt.). (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XI. 1901. Heft 2/3. p. 73—81.)
- v. Schlechtendal, D.**, Monophadnus elongatulus (Klug) Konow als Rosenschädling. (Allg. Ztschr. f. Entomol. 1901. No. 10. p. 145—147.)
- Schults, G.**, Zur Hederichvernichtung. (Landwirtsch. Ztg. f. Westfalen u. Lippe. 1901. No. 22. p. 240.)
- Sirrine, F. A.**, Spraying for Asparagus rust. (New York agricult. experim. stat. Geneva, N. Y. 1900. Bullet. No. 188. p. 233—276.)
- Sirrine, F. A.**, A little-known Asparagus pest. (New York agricult. experim. stat. Geneva, N. Y. 1900. Bullet. No. 189. p. 277—282.)
- Stemmler, L.**, Der Aescher, Oidium Tuckerii, und dessen Bekämpfung. (Amtsbl. d. Landwirtsch.-Kammer f. d. Reg.-Bez. Wiesbaden. 1901. No. 22. p. 189—190.)
- Stengels, D.**, Der Rebstockfalkäfer (Eumolpus vitis Kug) als Traubenschädiger. (Wchbl. d. landwirtschaftl. Ver. im Großherzogt. Baden. 1901. No. 22. p. 327.)
- Tusson, J.**, Ueber die Botrytiskrankheit junger Nadelholzpflanzen (Botrytis cinerea Pers.). (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XI. 1901. Heft 2/3. p. 95—98.)
- Ungewitter, C.**, Die Rattenplage und ihre rationelle Bekämpfung. 12ⁿ. 45 p. Erfurt (Fr. Bartholomäus) 1901. 1 M.
- d'Utra, G.**, Os insectos destruidores dos grãos. (Bolet. da agricult. do Estado de São Paulo. 1901. No. 1. p. 1—21.)

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

- Mohr, K.**, Versuche über die pilztötenden Eigenschaften des Sulfurins. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XI. 1901. Heft 2/3. p. 98—99.)
- van Slyke, L. L. and Andrews, W. H.**, Report of analyses of Paris green and other insecticides in 1900. (New York agricult. experim. stat. Geneva, N. Y. 1900. Bullet. No. 190. p. 283—290.)
- Vassilière, F.**, Note sur l'application du carbure de calcium à la destruction du phylloxéra. (Extr. d. Act. de l'Acad. d. scienc., belles-lettres et arts de Bordeaux.) 8ⁿ. 16 p. Bordeaux (Impr. Gounouilhou) 1901.

Inhalt.

Originalmittellungen.

- Barendrecht, H. P.**, Die Agglutination von Hefe. (Orig.), p. 623.
- Gerlach u. Vogel**, Ueber eiweißbildende Bakterien. (Orig.), p. 609.
- Gottheil, O.**, Botanische Beschreibung einiger Bodenbakterien. (Orig.) [Forts.], p. 627.
- Hagemann, C.**, Ueber die Wirkung des Milchthermophors. (Orig.), p. 640.
- Jensen, H.**, Bemerkungen zu „Stutzer: Neue Untersuchungen über . . . salpeterzerstörende Bakterien . . .“ (Orig.), p. 637.
- Stutzer, A.**, Entgegnung auf vorstehende Angaben. (Orig.), p. 639.
- Verney, Lorenz**, Ueber den „Milchthermophor“. (Orig.), p. 646.

Originalreferate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen Instituten, Laboratorien etc.

- Aderhold, Rud.**, Arbeiten der botanischen Abteilung der Versuchsstation des kgl. pomologischen Institutes zu Proskau. (Orig.), p. 654.

Referate.

- Einundzwanzigste **Denkschrift** betreffend die Bekämpfung der Reblauskrankheit, p. 664.
- Dorsett, P. H.**, Spot disease of the violet, p. 669.
- Kaeger**, Landwirtschaft und Kolonisation im spanischen Amerika, p. 663.
- Pierce, N. B.**, Peach leaf curl, p. 669.

Neue Litteratur, p. 669.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Prof. Dr. J. Behrens in Weinsberg i. W.,
Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Dr. v. Freudenreih in Bern, Privatdocent
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Dr. G. Harris Morris
in London, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädenswil, Dr. Erwin F. Smith in
Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr.,
Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Wegmann in Kiel
und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Berlin

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VII. Band.

Jena, den 10. September 1901.

No. 19.

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

*Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die
Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung
der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.*

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Nochmals über die Tabakfermentation. II.

Von Oscar Loew.

Nachdem ich in mehreren Mitteilungen¹⁾ nachgewiesen habe,
daß Bakterienthätigkeit bei der sogenannten Fermentierung des

1) Curing and fermentation of cigar leaf tobacco. (Report. No. 59. U. S. Dep. of Agriculture. Washington 1899.) — Physiological studies of Connecticut leaf tobacco. (Report. No. 65. U. S. Dep. of Agriculture. 1900.) — Sind Bakterien die

Tabaks ausgeschlossen ist, sucht Behrens in einem kürzlich erschienenen Artikel¹⁾ meine Beobachtungen zu bestreiten. Was es mit dieser „Widerlegung“ aber für eine Bewandnis hat, möge der Leser aus folgenden Zeilen entnehmen. Ich werde mich dabei so kurz als möglich fassen, denn manche Punkte sind ausführlich genug in meinen früheren Publikationen behandelt worden.

Zunächst wird behauptet, daß die von mir an der Oxydase des amerikanischen Tabaks beobachtete Tötungstemperatur ganz verschieden sei von derjenigen der im deutschen Tabak vorhandenen Oxydase. Nun beobachtete aber Behrens selbst schon bedeutende Unterschiede, je nachdem unverdünnter oder verdünnter Saft der Blätter zur Verwendung kam. Es wäre also angezeigt gewesen, in meiner Abhandlung nachzusehen, ob ich verdünnten oder unverdünnten Saft bei der Bestimmung verwendete, wenn der Leser nicht einen ganz falschen Eindruck gewinnen soll. Ich hatte bei meinen ersten Bestimmungen stets einen verdünnten Saft verwendet. Ferner habe ich erwähnt, daß ich meine Extrakte drei Minuten auf bestimmte Temperaturen erhitzte²⁾. Behrens aber erwärmt nur etwa eine Sekunde³⁾. Ich habe in meiner zweiten Abhandlung⁴⁾ speziell hervorgehoben, daß selbst solche kleine Zeitunterschiede Differenzen in der Tötungstemperatur ergeben. Daß außer der Zeit auch Reaktion und Gegenwart verschiedener Substanzen einen Einfluß in besagtem Punkte äußern — in Analogie mit anderen Enzymen — habe ich ausführlich erörtert⁵⁾. Es heißt in meiner zweiten Abhandlung vom März 1900 p. 21 wörtlich:

The temperatures thus far observed which render enzymes inactive are not constant under all conditions; the acidity of the plant juice, the degree of dilution, the duration of the heating, and the presence of certain salts have a modifying influence on the height of the temperature at which the change to the inactive modification takes place. It is to be regretted that authors have not always mentioned the conditions and the duration of the heating. The oxidase of the stalks of the sugar cane is killed at 60° C (140° F), the peroxidase of it at 95° C (203° F), according to Raciborski. Tyrosinase, an oxidase easily oxidizing tyrosine to a dark substance, is injured at 50° C (122° F) and killed below 70° C (158° F), ac-

Ursache der Tabakfermentation? (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VI. 1900. No. 4.) — Nochmals über Tabakfermentation. (Ibid. 1900. No. 18.)

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VII. 1901. No. 1. In diesem Artikel behauptet Behrens u. a., daß die Bakterientheorie der Tabakfermentation der „allgemein herrschenden“ Ansicht entspreche. Ich habe aber zahlreiche Beweise, daß jene Bakterientheorie in den Kreisen von Bakteriologen sowohl als in denen von Tabakfabrikanten keineswegs sich allgemeiner Annahme erfreute.

2) Siehe oben erwähnten Report. No. 59. p. 28.

3) Es heißt bei Behrens: „Sobald das Thermometer die entsprechende Temperatur anzeigte, wurde abfiltriert“.

4) Siehe den oben erwähnten Report. No. 65. p. 21.

5) Kürzlich fand Slowtzoff (Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. XXXI. No. 3), daß sehr aschearme Laccase bei 50°, aschereichere erst bei 65—70° getötet wird.

According to Bertrand. Laccase, an oxidase of widespread occurrence, is killed at 63° C (145,4° F). Oenoxidase loses half of its oxidizing power at 72° C (161,6° F) within four minutes, and at 55° C (131° F) in one and one-half hours. The oxidase of mammalia is killed at from 80° to 85° C (Abelous and Biarnès).

The influence of the duration of the heating is shown by the following test. The killing temperature of the oxidase in the juice of the tobacco leaf was repeatedly found to be from 66 to 67° C when the juice was diluted (one part dried leaf to twenty parts of water) and the solution heated for three minutes. But in heating it for a second only a much higher temperature may be endured. Certain salts, as ammonium sulphate, and also traces of free ammonia, increase the resistance, while acids, even in small quantities, decrease it. The juice of the midrib contains less acid than that of the lamina, and consequently it takes a temperature several degrees higher to kill the oxidase in the former than in the latter, but on being neutralized the latter may be safely heated for a moment to 75° C. The addition of alcohol decreases the power of resistance. Thus an addition of 33 per cent of alcohol to a neutralized solution of oxidase will depress the killing temperature about 2° C.

The following tests were made with peroxidase: Fresh tobacco leaves were ground, with the addition of some sand and a little water, and the pulp expressed. The residue was now left for some hours in contact with water to which 0,5 per cent acetic acid was added, and expressed again. The filtrate thus obtained was exactly neutralized with dilute caustic soda. It gave only a very faint reaction for oxidase, but an intense reaction for peroxidase. To one portion (20 ccm) was added one-half its volume of absolute alcohol; to another 10 per cent of ammonium sulphate. Upon heating in a water bath it was found that the peroxidase in the alcohol mixture was killed at a temperature of 70° kept up for a few seconds, while in the mixture containing the ammonium sulphate the enzyme was not killed after heating the mixture for a short time to 93° C. In the control solution the enzyme was killed at 87° C after three minutes.

Aus dem Vorstehenden ist ziemlich klar zu ersehen, daß ich die Tötungstemperatur der Oxydase nicht als eine unter allen Bedingungen konstante Größe betrachtete. Es ist somit Behrens' obenerwähnte Folgerung nicht begründet.

Wenn Behrens weiter folgert, daß die Oxydase bei der Fermentierung des deutschen Tabaks keine Rolle spiele, weil sie schon während der Dachreife verloren gehe, so berechtigt das doch wohl nicht zu dem Schlusse, daß überhaupt kein oxydierendes Enzym bei der Fermentierung thätig sei. Nun bleiben aber Peroxydase und Katalase auch nach der Dachreife des deutschen Tabaks erhalten, wie aus Behrens' eigenen Angaben ersichtlich ist. Ich habe schon vor Behrens und Raciborski beobachtet, daß während der Dachreife der Oxydasegehalt manchmal verschwindet und

habe z. B. in einer Probe dachreifen Tabaks aus Connecticut vom Jahre 1899 keine Oxydase, dagegen in einer Probe vom Jahre 1900 einen starken Oxydasegehalt beobachtet. Es mögen solche Unterschiede auf Witterungseinflüsse während der Dachreife zurückführbar sein. Es ist nicht berechtigt, von dem Ergebnis einer oder zweier Proben eines Jahrganges oder von einem einzigen Distrikte eine allgemein und für alle Jahre gültige Regel abzuleiten. Man vergleiche hierüber sowie über die Schwierigkeit, in dunkelbraunen Tabaken geringe Mengen von Oxydase nachzuweisen, das, was ich früher hervorhob¹⁾. Da die Energie der Selbsterwärmung bedeutend variiert, so wäre es von Interesse, diese Energie mit dem Oxydasegehalt zu vergleichen. Ein Tabak, der nur Peroxydase und Katalase enthält, wird sich langsamer erwärmen als einer, welcher noch alle drei oxydierenden Enzyme enthält.

Es ist bei der Beurteilung der Enzymthätigkeit bei der Fermentierung des Tabaks ferner im Auge zu behalten, daß die oxydierenden Enzyme höchst wahrscheinlich Zymogene besitzen, ebenso wie viele der anderen Enzyme. Wenigstens spricht hierfür in erster Linie die zuerst von Albert F. Woods gemachte Beobachtung, daß Saft von Tabaksblättern nach dem Aufkochen die Oxydasereaktion nicht mehr giebt, wohl aber wieder, wenn diese Lösung einige Zeit stehen bleibt. Wird aber nun zum zweiten Male aufgekocht, so kehrt die Reagenzfähigkeit nicht mehr zurück. Da somit das Zymogen resistenter scheint als die Oxydase selbst, so wäre es wohl möglich, daß ein dachreifer Tabak, welcher seine Oxydase verloren hat, doch noch das Zymogen derselben besitzt, welches später zur Wirkung gelangen könnte. Ich habe betreffs der Katalase in mehreren Fällen eine Zunahme während der Fermentierung des Tabaks konstatiert, was auch nur erklärbar ist durch Uebergang des entsprechenden Zymogens in Katalase.

Behrens behauptet ferner, daß Nikotinsalze weder durch Oxydase noch Peroxydase angegriffen werden, während ich Spuren von Ammoniak hierbei nachweisen konnte. Wäre er indessen genau so verfahren wie ich, d. h. hätte er bei Verwendung derselben Mengen Enzym die Reaktion statt sauer schwach alkalisch gehalten²⁾ und hätte er bei 50—60° statt bei 30° digeriert, so hätte er sicher auch Spuren von Ammoniak beobachten können. Nikotin liefert, mit verschiedenen Oxydationsmitteln behandelt, leicht etwas Ammoniak als Nebenprodukt. Die weitere Beobachtung, daß verdünnte Lösungen von Nikotinsalzen von Bakterien als Nahrung benutzt werden können, ist für unsere Frage gar nicht entscheidend. Ich habe diese Beobachtung schon vor 2 Jahren erwähnt³⁾, sie ist also nicht neu.

Behrens erwähnt ferner, daß er die Reaktion des dachreifen Tabaks niemals alkalisch gefunden habe. Das durchschossen gedruckte „niemals“ könnte beim Leser die Meinung er-

1) Centralbl. f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. VI. p. 592.

2) Es ist eine von Bertrand u. A. gemachte Erfahrung, daß alkalische Reaktion die Wirkung der oxydierenden Enzyme sehr begünstigt.

3) Siehe den oben erwähnten Report. No. 59. p. 22. Anmerkung.

wecken, als hätte ich behauptet, die Reaktion wäre alkalisch. Das ist aber durchaus nicht der Fall. Ich habe eine schwach alkalische Reaktion aber beobachtet an Blättern aus den fermentierenden Haufen, in welchen unter lebhafter Oxydation stickstoffhaltigen Material es Bildung von kohlensaurem Ammoniak statthatte. Wenn dann die Fermentation beendet ist, so reagiert der Tabak meist neutral, öfters auch spurenweise sauer. Ich habe die Abnahme der saueren Reaktion während der Dachreife mit $\frac{n}{10}$ - Natronlösung verfolgt und glaube annehmen zu können, daß die Fermentation um so rascher einsetzt, je schwächer die saure Reaktion bei der Dachreife schließlich geworden ist. Ich halte das Verfahren mancher Tabakfabrikanten in Florida, die dachreifen Blätter mit einer schwachen Lösung von Ammoniakkarbonat sich imbibieren zu lassen¹⁾, für sehr empfehlenswert.

Was die Wirkung der Peroxydase betrifft, so scheint die Meinung verbreitet zu sein, daß diese nur unter Mithilfe von Wasserstoffsuperoxyd zu oxydieren vermöchte oder nur locker gebundenen Sauerstoff übertragen könnte. Diese zunächst bei Guaiaconsäure zutreffende Ansicht kann aber keineswegs verallgemeinert werden; denn Hydrochinon und Pyrogallol (nicht aber Brenzkatechin) werden — wenn auch langsam — auch ohne Mithilfe von Wasserstoffsuperoxyd von Peroxydase angegriffen. In den Pflanzenzellen ferner, wo sie Wasserstoffsuperoxyd gar nicht zur Verfügung hat — dank der Gegenwart der dasselbe mit großer Energie zerstörenden Katalase — wird sie wohl auch eine Oxydationsfunktion ausüben; denn die Zellen würden die Peroxydase gewiß gar nicht bilden, wenn ihre Gegenwart nicht eine nützliche Anpassungserscheinung wäre. Es wäre nun unphysiologisch, anzunehmen, daß nach dem Tode der Zellen die Peroxydase nichts mehr oxydieren könnte. Sie wird im Gegenteil, wie Diastase und andere Enzyme, auch nach dem Tode der Zellen noch wirksam sein. Es ist nicht verständlich, warum Behrens Oxydationen durch Peroxydase im fermentierenden Tabak ableugnen will. Oxydationen bedingen aber Wärmeentwicklung und die anfangs nur geringen Wärmemengen werden weiter dadurch nützlich, daß sie in den Tabakhaufen präserviert werden; denn diese sind so umfangreich, daß weder Ausstrahlung, noch Leitung, noch Wasserverdunstung von der Oberfläche die Temperatursteigerung wesentlich herabdrücken können. Die Steigerung der Temperatur aber bedingt wieder Steigerung der Enzymenergie, und so steigern einander diese Einflüsse, bis 50—60° C erreicht sind, worauf die Haufen auseinandergenommen werden, um schädliche Wirkungen einer noch höheren Temperatur zu vermeiden. Ein Teil der oxydierenden Enzyme ist dabei allerdings zerstört worden, weshalb beim Wiederaufbau der Tabakhaufen statt 4 Tage es nun ca. 6 Tage dauert, bis dieselbe Tem-

1) Mit dieser Lösung wurden zunächst Tabakabfälle (Habana stems) extrahiert und die Basis der Tabakbündel eingetaucht. Von der Basis aus zieht sich dann die adhärierende Lösung allmählich in die Lamina.

peraturhöhe erreicht ist. Wären Bakterien die Ursache der Tabakfermentation, so müßten sie sich während ihrer Thätigkeit vermehrt haben und die Temperatursteigerung müßte nun beim Wiederaufbau der Haufen um so rascher erfolgen! Gegen diese Logik ist nichts zu machen; denn Nährstoffe sind noch in größter Menge vorhanden.

Wegen des dritten von mir im Tabaksblatte aufgefundenen oxydierenden Enzyms, der Katalase¹⁾, meint Behrens mir einen Irrtum nachzuweisen, wenn er findet, daß zwar grüne Tabaksblätter Katalase nur in der unlöslichen Modifikation enthalten, aber nicht fermentierte. Demgegenüber muß ich konstatieren, daß ich den partiellen Uebergang der unlöslichen in die lösliche Modifikation beim Fermentieren längst nachgewiesen habe. Ich schrieb im März 1900 in meinem 2. Report, p. 23, wörtlich Folgendes: „In the curing process of the tobacco leaf there is a small increase of the soluble modification probably formed from the insoluble. This increase is larger in the sweating (fermenting) process.“

Ferner habe ich in jener Abhandlung Vergleiche über die relativen Mengen löslicher und unlöslicher Katalase in verschiedenen fermentierten Tabakssorten beschrieben.

Auf die Behauptung von Behrens, die Existenz von oxydierenden Enzymen sei nicht genügend begründet, will ich hier nicht näher eingehen, sondern ihn nur auf diesbezügliche Mitteilungen von Epstein²⁾ und Slowtzoff³⁾ verweisen. Fernere Zweifel sind auch hier unberechtigt. Der Vergleich von Hämoglobin mit den oxydierend wirkenden Prinzipien der Pflanzensäfte ist verfehlt, denn Hämoglobin transportiert lediglich molekularen Sauerstoff in alle Teile des Tierkörpers; es ist dann das lebende Protoplasma der Zellen aller Gewebe, welches diesen molekularen Sauerstoff an sich reißt und zur Oxydation von Zucker und Fett verwendet. Pflüger hat schon vor 40 Jahren nach harten Kämpfen die irrthümliche Meinung widerlegt, daß die Oxydationen im Blute selbst durch das Hämoglobin besorgt würden. Die oxydierenden Enzyme arbeiten total verschieden von Hämoglobin; sie beladen sich nicht mit molekularem Sauerstoff, sondern rufen durch Uebertragung chemischer Energie in gewissen Körpern einen labilen Zustand hervor, infolgedessen diese dann wie die Autoxydatoren sich mittels molekularen Sauerstoffs oxydieren können⁴⁾.

Was nun die weiteren Versuche betrifft, welche Behrens

1) Die Katalase bleibt von allen Enzymen im Tabak am längsten erhalten. Selbst eine Probe 6 Jahre alten Tabaks enthielt noch reichlich davon. Eine ausführliche Abhandlung über Katalase wird bald erscheinen; ein Referat, von Bokorny nach dem Manuskript hergestellt, erschien im Botan. Centralbl. vom Oktober 1900. Ich habe zuerst nachgewiesen, daß die Fähigkeit, Wasserstoffsuperoxyd zu spalten, nicht allen Enzymen, sondern einem speziellen Enzym zugehört.

2) Arch. f. Hyg. Bd. XXXVI. p. 140. — Ref. im Centralbl. f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. VI. No. 1.

3) Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. XXXI. No. 3 und 4.

4) Aehnlich, aber weit energischer funktioniert das lebende Protoplasma selbst, wie ich in meiner Schrift: Die chemische Energie der lebenden Zellen, ausführlich erörtert habe.

vorführte, um die Bakterientheorie der Tabakfermentation zu beweisen, so will ich mich auf folgende Bemerkungen beschränken:

1) Behrens hat den Beweis nicht geliefert, daß Bakterien noch auf Tabak von 25 Proz. Wassergehalt gedeihen können; denn gegen seinen Versuch läßt sich manches einwenden. Es ist ganz unmöglich, durch Mischen von zerkleinertem Tabak mit Wasser einen Tabak zu erhalten, in welchem die gewünschten 25 Proz. Wasser gleichmäßig verteilt wären¹⁾. Manche Teilchen werden rasch, andere langsamer das Wasser aufnehmen, weil die Wassermenge nicht hinreicht, alle Teilchen gleich rasch und gleich stark damit zu benetzen. Diese sterilisierte Tabakprobe wurde dann mit einem Tropfen einer wässerigen Tabakaufschwemmung infiziert. Dieser Tropfen konnte aber sicherlich nicht gleichmäßig in der ganzen Tabakmasse verteilt werden. Da, wo er auffiel, werden die Teilchen sich rasch schwammartig vollgesaugt haben. Aber trotz der für diesen Versuch ungünstigen Umstände sind nach 31 Tagen nur 118 Bakterien in 1 g des Tabakpulvers aufgefunden worden. Jeder Bakteriologe wird zugeben, daß ein solcher Befund, bei dem noch dazu Sporen ausgesät worden sein können, nichts bedeutet für die in Rede stehende Frage.

2) Behrens hat bewiesen, was er widerlegen wollte, nämlich, daß auch die Bakterien, welche auf Tabaksblättern vorkommen, von der allgemeinen Regel keine Ausnahme machen, daß Bakterien größere Ansprüche an den Wassergehalt des Substrats machen als Schimmelpilze; denn er fand im obigen Tabakpulver über 8000 Schimmelpilzsporen pro Gramm. Die Ansicht von Behrens, daß auch Schimmelpilze auf festem Substrat besser wachsen, wenn dessen Wassergehalt erhöht wird, dürfte von Niemandem bestritten werden.

3) Ob und wieviel organische Materie in dem Imbibitionswasser der fermentierenden Tabaksblattmembranen gelöst ist, ist eine Frage, welche weder Behrens noch ich gelöst haben. Dieser Streit um des Kaisers Bart sei hier nicht wieder aufgenommen.

4) Den entscheidenden Hauptversuch, den ich von Anfang an empfohlen habe, hat Behrens scheinbar nicht ausgeführt. Ich will denselben nochmals dringend empfehlen: Man nehme aus dem Inneren eines fermentierenden Tabakhaufens ein Blatt, breite es auf einer sorgfältig gereinigten Glasplatte aus, befeuchte es mit einem Spray sterilisierten Wassers und schabe nun von einer 100 qcm betragenden Fläche mittels eines sterilisierten Messers die Oberfläche ab. Das Abgeschabte untersuche man gründlichst mit und ohne Tinktionsmethoden mit der Immersionslinse und zähle alles, was einem Bacillus oder Coccus ähnelt²⁾. Das Resultat

1) Dieses ist nur durch Aufhängen der Blätter in einem mit Wasserdampf gesättigten Raume und dann vorsichtiges Austrocknen bis zum gewünschten Wassergehalte zu erreichen. Es müssen hierbei freilich wiederholt Wasserbestimmungen vorgenommen werden.

2) Ich habe zum Vergleiche eine wirkliche Bakteriengärung des Tabaks ausgeführt durch Benetzen einiger Kilogramm Tabakblätter mit dem gleichen Gewichte Wasser. Nach 9 Tagen wimmelte das kleinste Stück von unzähligen Kokken und Stäbchen und das „Aroma“ war nicht von der gewünschten Art.

wird jeden Anhänger der Bakterientheorie aufs gründlichste bekehren!

Universität Tokio, 10. März 1901.

Nachdruck verboten.

Botanische Beschreibung einiger Bodenbakterien.

Beiträge zur Methode der Speciesbestimmung und Vorarbeit für die Entscheidung der Frage nach der Bedeutung der Bodenbakterien für die Landwirtschaft.

Von Dr. O. Gottheil.

Mit 4 Tafeln.

(Fortsetzung.)

Wichtigste Merkmale der Species „*Bacillus subtilis*“.

Spore. Sporengröße: 0,83—0,94 μ breit, 1,7—1,9 μ lang, Sporenform, charakteristischerweise länglich (Fig. A a, b, c, d), seltener wie Fig. A e, f, g. Die Sporenmembran, welche an den Polen der Sporen dicker ist als an deren Längsseiten, wird gut nach Färbung mit Methylenblau- oder Fuchsinlösung sichtbar; Exine und Intine sind nicht zu unterscheiden. Die Sporen halten ein $\frac{1}{2}$ - bis 1-stündiges Kochen aus; sie schwellen vor der Keimung nur sehr wenig an (Fig. C). Die Keimung erfolgt: 1) seitlich unter Keimung mit Kurzstäbchen (Fig. D a, b, c, d, e, f, E); 2) seitlich unter Keimung mit längeren, kommaförmig gekrümmten Stäbchen (Fig. F a, b, c); 3) durch äquatoriales, ringförmiges Aufreißen der Sporenmembran unter Streckung des Keimstäbchens (Fig. G a, b, H). Die Keimstäbchen werden 1- bis 2- lang, 0,83 μ breit und beginnen bald zu schwärmen. Auf Agar, nach ungefähr 15—20 Stunden bei 28° findet man homogene Einzel- und Doppelschwärmer, welche 1- bis 2-lang und 0,83—0,94 μ breit sind. An den nach Loeffler gefärbten Schwärmern erkennt man peritriche Begeißelung (Fig. O, P). Nach 40 Stunden sind auf der Agarfläche Ruhestäbchen und wenige Sporangien, nach 3—4 Tagen vorherrschend Einzel- und Doppelsporangien mit end- und mittelständigen Sporen (wie Fig. L a, b, c, d und M a, b, c, d, e, f) entwickelt. In Heuabkochen findet nach ungefähr 15—20 Stunden bei 28° Kahlhautbildung und in den die Kahlhaut bildenden Ruhestäbchen starke Glykogenspeicherung statt. In Nährlösung X wird nach 2—4 Tagen stets eine Kahlhaut entwickelt. Die Intensität des Wuchses in den Nährlösungen: X und II = 3—4; III und IV = 0—1 ist charakteristisch. Die Agar-

Behrens erwähnt noch am Schlusse, ich hätte den oxydierenden Enzymen eine Rolle beim Rotten der Kakaobohnen zugeschrieben. In meiner Abhandlung heißt es aber lediglich: „Still another case may be pointed out, where oxydases might possibly play apart, that is in the so called fermentation of the cacaobeans“. Ist das eine Behauptung?

strichkultur sieht nach 15—24 Stunden bei 28° grauweißlich, rauh, dünn, häutig aus. Die Möhrenkultur war nach 15 Tagen entweder weißlich, runzlig, stark leistenförmig (*Bac. subtilis*), oder schmutzigbräunlich, homogen glatt (*Bac. subtilis* α). Diastase- und Alkalibildung sind in Nährlösung X vorhanden. Nitritbildung findet in Nährlösung VII, und II + 0,4 Proz. Kaliumnitrat statt. Die Gelatine wird verflüssigt.

***Bacillus pumilus* A. M. et Gotthell (Fig. Xa).**

Möglicherweise synonym: *Bacillus leptodermis* Burchard. (Beiträge z. Morphol. u. Entwicklungsgeschichte d. Bakt. Diss. 97. Arb. a. d. bakt. Institut der techn. Hochschule z. Karlsruhe. Bd. II. 98. Heft 1 p. 33.)

Diese Species wurde auf *Brassica Napus esculenta*, *Brassica Rapa communis*, *Brassica oleracea gongyloides*, *Beta vulgaris zonata*, *Apium graveolens*, *Daucus Carota*, *Helianthus tuberosus*, *Iris sambucina*, *Petasites albus*, *Physostigma virginiana*, *Raphanus sativus vulgaris* gefunden.

Gelatineplattenkultur. Nach 2 Tagen sind kleine, punktförmige, weißliche Kolonien entwickelt, welche bei mikroskopischer Beobachtung hell, rundlich, körnig, schwach gelblich erscheinen. Nach 3 Tagen waren an denselben meistens kleine, seitliche Ausstülpungen zu finden. Nach 4, 6 und selbst nach 14 Tagen waren die Kolonien nicht wesentlich größer, nur die seitlichen, jetzt oft etwas zopfigen Auswüchse hatten sich ein wenig vermehrt. Die in diesem Falle etwas festere Gelatine war noch nicht verflüssigt. Gelatinestichkultur. Auf der Oberfläche wurde ein gallertartiger, häutiger Belag entwickelt, welcher in die Gelatine grubenförmig einsank und letztere nach ungefähr 8 Tagen langsam zu verflüssigen begann. Es entwickelte sich stets eine Kahlhaut, welche einmal runzlig, ein anderes Mal aber vollständig glatt, glänzend war. Die Verflüssigung der Gelatine war in den mit verschieden alter Nährgelatine hergestellten Stichkulturen zu den verschiedensten Zeiten eingetreten. In einer Kultur war bereits nach 8 Tagen die Gelatine noch nicht ganz bis zur Wandung des Reagenzglases in 0,5 cm Höhe verflüssigt; nach 10 Tagen war eine gerunzelte Kahlhaut ausgebildet und die Gelatine in 1 cm Höhe, nach 4 Wochen in 2,5 cm Höhe verflüssigt. In einer anderen Kultur war selbst nach 14 Tagen noch keine Verflüssigung zu beobachten; langsam entwickelte sich eine glatte, glänzende Kahlhaut und nach 2 Monaten war dann die Gelatine erst 1 cm hoch verflüssigt. Die verflüssigte Gelatine war schwach getrübt, am Boden derselben sammelte sich ein schwach-flockiger, leicht aufschüttelbarer Satz an. Im Stichkanal findet keine Entwicklung statt. Agarstrichkultur. Nach dem Impfen mit abgekochten Sporen entwickelt sich nach 24 Stunden bei 28° eine dünne, glasige Kolonie; nach 2—3 Tagen ist dieselbe noch dünn, gleichmäßig glänzend. Das Kondenswasser, welches nicht schleimig wird, ist durch Schwärmer stark getrübt. Nach 4 Tagen bemerkt man im Kondenswasser eine Kahlhaut. Die Kolonie haftet auf der

Agarfläche fest an und war nach 7 Tagen dicker, stark glänzend, glatt, weißlich. Eine alte aus Sporen bestehende Kolonie sieht meist gelblich, homogen, glatt und glänzend aus. Agarstichkultur. Langsam wurde auf der Oberfläche eine glatte, später häutige, schwach runzlige Kolonie entwickelt, welche in den Stich ungefähr 1 cm tief eindrang. Wachstum auf steriler Möhrenscheibe. *Bac. pumilus* entwickelte sich auf der Möhre nie sehr stark. Auf einer sehr feuchten Möhrenscheibe ist nach 14 Tagen eine dünne, gelbliche, homogene Kolonie entwickelt, welche aus äußerst lebhaften Schwärmern besteht. Nach 4 Wochen war dieselbe in gleicher Weise dünn, gelblich, glänzend und bestand nun aus Schwärmern, Ruhestäbchen, Sporangien und Sporen. Ist die Möhrenscheibe trocken, so wird die Kolonie matt, häutig, runzlig. Eine alte Kultur besitzt einen schwachen, unangenehmen Geruch. Kartoffelkultur. Nach 9 Tagen war eine matt gelbliche bis bräunliche, feinkörnig aussehende Kolonie entwickelt; bei Lupenbeobachtung konnte man feine, schlangenförmig gewundene Erhebungen erkennen. Eine 3 Wochen alte Kolonie ist dünn, schmutzigbräunlich, nicht schleimig.

Entwicklungsgang von *Bacillus pumilus* auf Dextroseagar. Die kleinen, $0,55 \mu$ breiten, $0,94-1,52 \mu$ langen Sporen sind vorherrschend und charakteristischerweise länglich, stäbchenförmig (Fig. A a, b), seltener ellipsoidisch wie (Fig. A c, d). Die Sporenmembran ist ohne Reagens nicht sichtbar; erst nach Durchfärbung der Sporen mit Fuchsinlösung ist dieselbe deutlich zu erkennen (Fig. A d); Exine und Intine sind (mit Immersion Zeiß $\frac{1}{12}$, Ap. 1,3), nicht zu unterscheiden. Die Sporen keimen auf dem Agar nach ungefähr 5 Stunden bei 28° , sie schwellen nur wenig vor der Keimung an (Fig. B). Die Erkennung der Sporenmembran bei der Beobachtung der Keimungen in der feuchten Kammer gelingt selten gut, bringt man dagegen keimendes Material von einer 5stündigen Agarkultur auf einen Objektträger und färbt dasselbe mit Fuchsinlösung an, so ist die Sporenmembran deutlich erkennbar. Die Keimung erfolgt polar (Fig. C a, b, D). Die Keimstäbchen werden 1-, seltener 2- lang und ungefähr $0,55 \mu$ breit. Wenn genügend Sauerstoff vorhanden ist, schwärmen die Stäbchen sofort nach der Keimung. Bei der Beobachtung in der feuchten Kammer schwärmten sie nicht, aus derselben herausgenommen schwärmten sie sofort lebhaft, ebenfalls auf der Agarfläche. Nach 24 Stunden findet man in der dünnen, glasigen Kolonie sehr lebhaft Schwärmer, welche stark positiv aërotaktisch sind. Es sind Einzel- und Doppelstäbchen vorhanden, welche 1- bis 2- lang, 1- bis 2-zellig (Fig. E a, b, c, d) und $0,77 \mu$ breit sind. Nach 2 Tagen sind auf der Oberfläche wie im Kondenswasser Schwärmer und Ruhestäbchen, aber noch keine Sporangien entwickelt. Diese Stäbchen sind homogen und waren auf Agar mit Dextrose gezüchtet glykogen- und fettfrei. Mit Methylenblaulösung erkennt man in den Stäbchen, bei verhältnismäßig intensiver Durchfärbung, kleine Vakuolen. Auch nach 3 Tagen waren noch keine Sporen entwickelt, erst nach 4 Tagen fand ich im oberen Teile der Agarkolonie, außer

Ruhestäbchen, Sporangien; im Kondenswasser noch viele lebhaft Schwärmer. Die Sporangien behalten vorherrschend die normale Stäbchenbreite (Fig. F a, b), seltener runden sie sich etwas ab (Fig. F c). Die Sporen werden sowohl mittel-, wie auch endständig ausgebildet. Nach 7 Tagen findet man auf der Agarfläche Sporangien und freiliegende Sporen; im Kondenswasser noch viele lebhaft Schwärmer. Die Sporangien kommen vor als Einzelsporangien, wie auch in 2- und mehrstäbigen Zellfäden mit aus einlangen Sporangien bestehenden Stäbchen. Schleimbildung ist nicht vorhanden. Die Geißelfärbung gelingt leicht; die Begeißelung ist peritrich, und zwar findet man an einem 2-langen Stäbchen bis 12 Geißeln (Fig. G, H), welche 3- bis 4-mal so lang sein können, als ein 2-langes Stäbchen.

Entwicklungsgang in Nährlösung. In einem breiten Kölbchen mit Nährlösung IV (Asparagin 1, mineral. Lösung 100) geht die Entwicklung von *Bacillus pumilus* normal von statten. In Reagenzgläsern bleibt die Entwicklung dagegen sowohl in dieser, wie auch in anderen Nährlösungen nur äußerst schwach. Nach 3 Tagen bei 28° findet man nach dem Impfen mit Sporenmateriale und nach dem Abkochen derselben viele lebhaft Schwärmer und eine dünne Kahlhaut; nach 7 Tagen ist letztere dicker geworden und in der Lösung sind Einzel-, Doppelstäbchen, seltener einstäbige, mehrlange Zellfäden entwickelt. Die Kahlhaut bleibt lange erhalten; schüttelt man sie ab, so wird nach einigen Tagen wieder eine neue Kahlhaut gebildet; die Lösung ist dann trübe, opalesciert stark, und ist von feinen gerinnselartigen Stückchen durchsetzt. Sporen waren in einer 5 Wochen alten Kultur noch nicht entwickelt. Eine 3—4 Wochen alte Kultur reagiert stark alkalisch, wird durch Phenolphthalein rot gefärbt, und besitzt einen ammoniakalischen Geruch. Wird ein mit Salzsäure befeuchteter Glasstab in die Lösung hinein gehalten, so werden dicke, weiße Nebel entwickelt. Es bilden sich anscheinend aus Asparagin und mineralischer Nährlösung flüchtige Ammoniumbasen. — In Heuabkochung keimen die Sporen von *Bac. pumilus* gut; nach 1—2 Tagen ist eine bräunliche Kahlhaut entwickelt; nach 2—3 Tagen war in vielen Ruhestäbchen Glykogen nachweisbar. Die Entwicklung ist in dieser Lösung äußerst kräftig.

Wachstum in den verschiedenen Nährlösungen. Nach 3 bis 4-wöchentlicher Entwicklung bei 28°. Die Entwicklung ist in allen Nährlösungen relativ schwach. Nährlösung 0 und I. Lösung opalesciert trübe, nicht schleimig. I + Marmor: Lösung stärker getrübt. II. Gute Entwicklung, Lösung trübe; es sind Sporen gebildet. III. Sehr schwache Entwicklung. IV. Entwicklung schwach, Lösung opalesciert trübe. V₇. Lösung stark opaleszierend. V₈. Lösung trübe. V, V_β, V_γ, VI, VII, VIII, IX, X, XI. Keine Entwicklung.

Intensitätstabelle.

0	I	I + Marmor	II	III	IV	V	V _α	V _β	V _γ	V _δ	VI	VII	VIII	IX	X	XI
2	2	3	3	0-1	1-2	0	2	0	0	2	0	0	0	0	0	0

Alkalibildung. Indikator: Dimethylamidoazobenzol. 10 ccm Nährlösung IV = 0,2 ccm $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure, 10 ccm nach 6-wöchentlicher Ent

wicklung bei 28° = 8,7 ccm $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure. Alkalibildung in 10 ccm = 8,5 ccm $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure. Nach mehreren Monaten untersuchte ich eine nochmals angesetzte Kultur und fand: Alkalibildung in 10 ccm = 8,4 ccm $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure. Diastase- und Gasbildung ist nicht vorhanden.

Der von *Brassica Napus esculenta* isolierte *Bacillus pumilus* zeigte folgende kleine Abweichungen von der gegebenen Beschreibung.

1) Die Kahlhautbildung in der Nährlösung IV war stärker; die Kahlhaut wurde dicker und schwach schleimig.

2) Die Kolonie auf der Möhre wurde dicker; eine mehrere Wochen alte Kolonie war relativ dick, grau.

3) Die Wachstumsintensität in den Nährlösungen V, V γ war = 1, V β = 2, II = 4.

4) Die Alkalibildung war schwächer.

Alkalibildung in 10 ccm = 6,6 ccm $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure; als ich nach öfterem Öffnen des Kölbchens und nach Umschütteln der Lösung letztere nochmals untersuchte, fand ich: Alkalibildung in 10 ccm nur = 2,8 $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure.

Bacillus pumilus a (Fig. X b).

Diese Species wurde auf *Daucus Carota* gefunden. Die Angaben, welche ich für *Bac. pumilus* gemacht habe, gelten alle für *Bac. pumilus a*, soweit sie nicht durch das Folgende eine Aenderung erfahren. 1) Die Sporen waren vorherrschend mehr oval, nicht länglich, stäbchenförmig (Fig. A a, b). 2) Auf Agar fand ich nach 2 Tagen Einzel- und Doppelstäbchen (Fig. B a, b), und viele längere 1- und auch mehrstäbige Zellfäden entwickelt (Fig. B c, d). 3) Die Sporangien waren ebenfalls wie die Stäbchen relativ schmal (Fig. C a, b, c, d). 4) Die Kahlhaut wurde kräftiger entwickelt. 5. Alkalibildung in 10 ccm Nährlösung IV, nach 6-wöchentlicher = 4,3 ccm $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure.

Wichtigste Merkmale der Species

„*Bacillus pumilus a*“.

Spore. Sporengröße: 0,55 μ breit, 0,94—1,52 μ lang. Sporenform: charakteristischerweise stäbchenförmig (Fig. A a, b), seltener wie Fig. A c, d. Ohne Anwendung eines Reagens ist die Sporenmembran nicht sichtbar; erst nach Durchfärbung der Sporen mit Fuchsin (Fig. A d) ist dieselbe deutlich erkennbar; Exine und Intine sind nicht zu unterscheiden. Die Sporen schwellen vor der Keimung nur wenig an (Fig. B). Die Keimung erfolgt polar. Die Keimstäbchen werden 1- bis 2-lang und 0,55 μ breit; sie schwärmten sofort. Auf Agar, nach 24 Stunden sind meistens lebhaft schwärmende Einzel- und Doppelstäbchen entwickelt, welche 0,6 (*Bac. pumilus a*) bis 0,77 μ (*Bac. pumilus*) breit sind. Nach 2—4 Tagen findet man Ruhestäbchen und Schwärmer. Die Schwärmer sind stark aërotaktisch und haben peritriche Begeißelung (Fig. X a *Bac. pumilus*, G, H); (Fig. X b *Bac. pumilus a*, D, E). Nach 4—5 Tagen sind Sporangien vorhanden; sie sind stäbchenförmig, wie auch schwach abgerundet (Fig. X a *Bac. pumilus* F a, b, c); (Fig. X b *Bac. pumilus a*, C a, b, c, d). Die Intensität des Wuchses in den Nährlösungen: II = 3—4, IV = 1—2 und V = 0—1, VI, VII, VIII, IX, X = 0 ist charak-

teristisch. Die Agarstrichkultur ist nach 24 Stunden schwach, dünn, glänzend, glasig, entwickelt; nach 4 Tagen ist sie weißlich, homogen glänzend. Altes Sporenmateriale ist gelblich, stark glänzend. Die Möhrenkultur wird dünn, gelblich, entweder glatt oder schwach runzlig, nach mehreren Wochen grau, nicht schleimig. In Heuabkochung findet starke Entwicklung, Kahlhaut- und schwache Glykogenbildung statt. In Nährlösung IV werden charakteristischerweise eine Kahlhaut und flüchtige Ammoniumbasen entwickelt; Alkalibildung ist also in Nährlösung IV vorhanden. Diastasebildung findet nicht statt. Die Gelatine wird stets langsam verflüssigt.

Bacillus simplex A. M. et Gotthell (Fig. XI).

Möglicherweise synonym: *Bacillus loxosporus* Burchard. (Beiträge z. Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Bakt. Diss. 97. Arb. a. d. bakt. Inst. d. techn. Hochschule zu Karlsruhe, Bd. II. 98. Heft 1 p. 49.) *Bacillus natans* Kern (Beitrag zur Kenntnis der im Darms und Magen der Vögel vorkommenden Bakterien. Arb. a. d. bakt. Inst. der techn. Hochschule zu Karlsruhe. Bd. I. 1896. Heft 4. p. 413). *Bacillus vacuolosus* Sternberg o. (Kruse, Flügg e, Mikroorganismen. 3. Aufl. Bd. II. 1896. p. 216.)

Diese Species wurde auf *Brassica Napus esculenta* gefunden. Gelatineplattenkultur. Nach 2 Tagen bemerkt man runde, weißliche Kolonien, welche, mikroskopisch beobachtet, scharf umrandet, dick, grobkörnig, nach der Peripherie zu etwas wolkig aussehen. Nach einigen Tagen ist die Gelatine verflüssigt. Gelatinestichkultur. Es wird ein weißlicher Belag entwickelt; nach ungefähr 12 Tagen war in einem Falle Verflüssigung der Gelatine in 0,5 cm Höhe eingetreten, in einem anderen Falle war die Gelatine nach 12 Tagen bereits gegen 2 cm Höhe verflüssigt. Die verflüssigte Gelatine blieb klar und wurde dunkler gefärbt; am Boden derselben sammelte sich ein weißlicher, flockiger, sedimentartiger Satz an; bei vollständiger Ruhe fand Kahlhautbildung statt. Die Kolonie blieb im Stiche unentwickelt. Agarstrichkultur. Nach 24 Stunden entwickeln sich aus den Sporen erst kleine tröpfchenförmig oder mehr blasig aussehende Kolonien, welche sich später vereinigen und nach ungefähr 54 Stunden eine gleichmäßig rauhe, runzlige, blasige Kolonie bilden; dieselbe wird häutig und haftet fest auf der Agarfläche an. Eine ältere Kolonie war homogen und hatte jegliche charakteristische Wuchsform verloren. Geht man bei der Ausführung der Strichkultur von nicht abgekochtem Sporenmateriale aus, so erhält man nach 16–24 Stunden eine vollständig homogene, auch fest auf der Oberfläche anhaftende Kolonie. Agarstichkultur. Auf der Oberfläche entwickelt sich eine dicke, glasig-glänzende Kolonie. Im Agarstich drang dieselbe nur wenige Millimeter tief ein. Wachstum auf steriler Möhrenscheibe. Auf einer Möhrenscheibe von 2 cm Durchmesser war nach 3 Tagen bereits eine Bakterienkolonie von 1 cm Durchmesser entwickelt; dieselbe war dick, glasig-durchsichtig, schlangenförmig oder gekröseartig gewunden. Mit der Platinnadel konnte man nur fest zusammenhängende, bröcklige Stückchen abheben. Nach 7 Tagen war ein porzellanartiger, weißer, runzlicher

Belag entwickelt. Nach den ersten Tagen findet man lebhaft schwärmende Einzel- und Doppelstäbchen, einige Tage später Ruhestäbchen und Sporangien. Kartoffelkultur. Eine Kartoffelscheibe von 4 cm Länge und 2 cm Breite war nach 9 Tagen von einer dicken, nach dem Rande zu flacher werdenden, gelblichen, stark runzligen, schlangentartig gewundenen Kolonie bedeckt, welche nach 14 Tagen aus meist angeschwollenen Involutionsformen bestand, die viel Fett gespeichert und teilweise Sporen entwickelt hatten (Fig. Q a, b, c, d, e). Mehrere Monate später setzte ich *Bac. simplex* nochmals auf Kartoffel an; nach 8 Tagen war eine grauweiße, etwas runzlige Kolonie entwickelt, welche aus Ruhestäbchen bestand, die viel Glykogen gespeichert hatten. Auch nach 14–20 Tagen war Fettbildung in dieser Kultur nicht eingetreten.

Entwicklungsgang von *Bacillus simplex* auf Dextroseagar. Die normalsten Sporen sind ellipsoidisch (Fig. A a, b, c, d, e, f), seltener mehr kugelig, relativ dick und auch länglich wie Fig. B a, b, c; sie sind $0,83 \mu$ breit und $1,39$ – $1,7 \mu$ ganz vereinzelt bis $2,2 \mu$, lang. Im optischen Querschnitt erscheinen die Sporen kreisförmig (Fig. C). Die Sporenmembran ist dünn, nach allen Richtungen hin gleichmäßig stark ausgebildet; ohne Reagens ist sie meistens nicht sichtbar; nach Durchfärbung der Sporen mit Fuchsin oder Sudan-Methylenblau tritt die Membran deutlich hervor, eine Differenzierung derselben in Intine und Exine ist (mit Immersion Zeiß $\frac{1}{1,3}$, Ap. 1,3) nicht erkennbar. Die Sporen schwellen vor der Keimung relativ stark an (Fig. D); durchfärbt man die kurz vor der Keimung befindlichen Sporen mit Methylenblaulösung 1:40, so erkennt man an den, noch in der Sporenmembran befindlichen, Stäbchen bereits feine Vakuolen. Die Sporen keimen auf dem Agar nach ungefähr 6 Stunden bei 28° . Am häufigsten fand ich bipolare, seltener polare und seitliche Keimung (Fig. E a, b, c, d, e, f, g, h). Die Sporenmembran haftet noch einige Zeit mitten an den bipolar gekeimten Stäbchen fest (E c). Die Keimstäbchen werden bis 3-, seltener mehr lang, $0,94 \mu$ breit und schwärmen nicht sofort. Nach 6 Stunden bei 28° und 14 Stunden bei Zimmertemperatur findet man meistens Einzel- und Doppelstäbchen (Fig. F b, c, d, e), deren Stäbe 1- bis 3- lang und 1- bis 3-zellig sind (Chlorzinkjod), weniger findet man 10-, 20-, 30- bis 50-, selten mehr-lange einstäbige Zellfäden, welche charakteristischerweise meist unseptiert sind (Chlorzinkjod) (Fig. F a). Nach ungefähr 9 Stunden bei 28° erkennt man viele bis 12-stäbige Zellfäden, deren Stäbe meist 2- bis 3- lang sind und viele 50- und mehr-lange Stäbe von oft etwas variierender Dicke, die auch mit Chlorzinkjod meistens keine Septierung zeigen. Nach 12 Stunden sind in den auf der Oberfläche erst tröpfchenförmig entwickelten Kolonien meistens Einzel- und Doppelstäbchen vorhanden, welche größtenteils lebhaft schwärmten (Fig. G a, b, c, d). Nach 16–18 Stunden sind auf der Oberfläche lebhaft Schwärmer und Ruhestäbchen, von oft wechselnder Länge (Fig. G a, b, c, d, H a, b, c, d, e, f, g, h, i) zu finden. Viele Stäbchen sind 1- und 2-lang und haben Glykogen gespeichert; besonders charakteristisch sind die vielen kurzen einlangen Schwärmer wie Fig. M; außer-

dem findet man längere vielstäbige, wie auch 10 und mehr-lange einstäbige Zellfäden (Chlorzinkjod). Im Kondenswasser finden sich vorherrschend lebhafte Schwärmer; die auch hier vorkommenden 5-, 10-, 20- und mehr-langen, unseptierten (Chlorzinkjod) Stäbe sind oft in lebhaft schlängelnder Bewegung. Auch nach 24 Stunden findet man im Kondenswasser viele Einzel- und Doppelschwärmer, welche 1- bis 2-lang und 1- bis $1,1 \mu$ breit sind (Fig. H b, c, d, e, f, g, h), und 1-stäbige 20 und mehr-lange, oft schwärmende Zellfäden, welche häufig septiert sind (Chlorzinkjod). Nach 36 Stunden sind meistens kurze Einzel- und Doppelstäbchen (Fig. H b, c, d, e, f, g, h) entwickelt, seltener 10- und mehr lange 1-stäbige, wie auch vielstäbige Zellfäden, welche jetzt viel Glykogen gespeichert haben. In der Nähe des Kondenswassers oder in demselben finden sich noch viele lebhafte Schwärmer. Die Kolonie auf der Agarfläche nimmt nun eine mehr körnige, runzlige Beschaffenheit an, und man beobachtet jetzt den Beginn der Sporenbildung. Nach 2—3 Tagen findet man meist 1- bis 4-lange Stäbchen in normaler Breite und auch viele angeschwollene, mehr oder weniger abgerundete Stäbchen (Fig. H i, k, l, m). Große Mengen Glykogen sind in diesem Agarmaterial, speziell in den angeschwollenen Stäbchen, nachweisbar. Außer diesen Ruhestäbchen findet man Sporangien entwickelt; charakteristisch sind Sporangien, wie dieselben in Fig. P b, c, d, N dargestellt sind, also etwas bauchig angeschwollene mit endständigen Sporen; häufig findet man dreilange einzellige Stäbchen (Chlorzinkjod), welche je eine Spore entwickelt haben. Weiterhin erkennt man auch Sporangien, welche die Stäbchenform beibehalten wie Fig. O, P a, e. Meistens sind Einzel- und Doppelsporangien ausgebildet, seltener mehrstäbige Zellfäden aus aus 1 Sporangium bestehenden Stäbchen. Nach 7 Tagen fand ich im Kondenswasser außer Ruhestäbchen und Sporangien noch viele lebhafte Schwärmer. Die Agarkolonie entwickelt Schleim, welcher durch Methylenblau oder Dahlia leicht färbbar ist. An den nach Loeffler gefärbten Schwärmern erkennt man an einem einlangen Stäbchen bis 8 peritrich angelegte Geißeln (Fig. I, K, L, M).

Entwicklungsgang in Nährlösungen. Die Sporen von *Bacillus simplex* keimen in Nährlösung V (Asparagin 1,0, Rohrzucker 0,5 Glycerin 1,0 mineral. Lösung 100). Nach 2—3 Tagen bei 28° wird die Lösung trübe, man findet Einzel- und Doppelstäbchen (Fig. H e, f, g, h) und 10- und mehrstäbige Zellfäden, von denen die meisten schwärmen. Bei völliger Ruhe entwickelt sich nach 5 Tagen eine Kahmhaut, die aus 50- bis 60-stäbigen Zellfäden besteht, deren Stäbe 1- bis 2- lang sind (Fig. R) und häufig schon Sporen gebildet haben. Nach 3 Wochen findet man normale Einzel- und Doppelschwärmer, bis 20- und mehr-lange einstäbige Zellfäden und viele Involutionsformen. Eine mehrere Wochen alte Kultur ist dick, schleimig und von schwach alkalischer Reaktion. Die Sporen von *Bac. simplex* keimen nicht in Nährlösung X; jedoch nach dem Impfen der Lösung mit Stäbchen von einer 16—20-stündigen Agarkultur erfolgt langsame Entwicklung. Nach 3—5 Tagen findet man viele äußerst lebhafte Schwärmer, Einzel- und

Doppelstäbchen, wie auch vielstäbige Zellfäden. Die Stäbchen hatten große Mengen Glykogen gespeichert (Fig. S a, b). In Heuabkochung keimen die Sporen. Nach ungefähr 3 Tagen ist ein dünnes, lockeres Häutchen entwickelt, welches nicht so widerstandsfähig ist als dasjenige, welches z. B. *Bac. subtilis* in gleicher Lösung entwickelt. Man findet lebhaft Schwärmer und Ruhestäbchen, und bereits wenige Sporangien (T a, b, U, V). In vereinzelt Sporangien war die Sporenmembran ohne Anwendung eines Reagens erkennbar (Fig. U). Die Ruhestäbchen hatten Glykogen gespeichert.

Wachstum in den verschiedenen Nährlösungen. Nach 4-wöchentlicher Entwicklung bei 28°. Nährlösung 0, I und I + Marmor. Sehr starke Entwicklung, Kahnhautbildung, starke Randbildung und starker Bodensatz; noch viele Schwärmer. Lösungen alkalisch. II. Gesunde, normale Kultur, Kahnhautbildung. III. Lösung ist fast unentwickelt geblieben, opalesziert, wenige Schwärmer. IV. Schwache Entwicklung, Lösung schwach trübe; keine Schwärmer. V. Lösung trübe, schleimig, flockig. Va. Lösung trübe; Kultur von ungesundem Aussehen. Vβ. Keine Entwicklung. Vγ. Lösung flockig, ganz gute Entwicklung. Vδ. Lösung schwach schleimig, ganz gute Entwicklung. Schwärmer. VI. Lösung schwach trübe. Kultur krank aussehend, keine Schwärmer. VII, VIII und XI. Keine Entwicklung. IX. Lösung trübe, nicht schleimig; wenige Stäbchen, meist Sporen. X. Langsame Entwicklung. Farbe der Lösung unverändert.

Intensitätstabelle.

0	I	I + Marmor	II	III	IV	V	Vα	Vβ	Vγ	Vδ	VI	VII	VIII	IX	X	XI
4	4	4	3	0-1	1	3	2	0	2	2	1-2	0	0	2	3	0

Alkalibildung. Indikator: Dimethylamidoazobenzol. 10 ccm Nährlösung X = 0,5 ccm $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure, nach 6-wöchentlicher Entwicklung bei 28° = 6 ccm $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure. Alkalibildung in 10 ccm = 5,5 ccm $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure. Diastasebildung (untersucht in Nährlösung X, nach 5-wöchentlicher Entwicklung bei 28°) ist nicht nachweisbar. Gasbildung findet nicht statt.

Wichtigste Merkmale der Species

„*Bacillus simplex*“.

Spore: Sporengröße: 0,83 μ breit, 1,39–1,7, selten bis 2,2 μ lang. Sporenform: Fig. A a, b, c, d, e, f; seltener wie Fig. B a, b, c. Sporenmembran ohne Reagens nicht sichtbar; durch Methylenblau-Sudan oder Fuchsin wird die Sporenmembran gefärbt. Exine und Intine ist nicht unterscheidbar. Relativ starke Anschwellung der Sporen vor der Keimung (Fig. D). Die Sporen keimen bipolar, polar und seitlich (Fig. E a, b, c, d, e, f, g, h). Die Keimstäbchen werden bis 3-, seltener mehrlang und 0,94 μ breit. Auf Agar entwickeln sich nach ungefähr 9 Stunden bei 28° viele 12-stäbige Zellfäden, deren Stäbe meistens 2- bis 3- lang sind, und viele 50- und mehrlange Zellfäden, die auch mit Chlorzinkjod meist keine Septierung zeigen (Fig. F a). Nach 12 Stunden sind meist lebhaft schwärmende Einzel- und Doppelstäbchen zu finden (Fig. G a, b, c, d). Nach 16–18 Stunden findet man lebhaft Schwärmer und Ruhestäbchen von wechselnder Länge (Fig. G a, b, c, d. H a, b, c, d, e, f, g, h, i). Besonders charakteristisch sind die kurzen einlangen Schwärmer (Fig. H g, h, M). Nach 12–24 Stunden findet man viele lebhaft Schwärmer; dieselben besitzen peritriche Begeißelung (Fig. I, K, L, M). Die Stäbchen

sind 1—1,11 μ breit. Nach 24—36 Stunden haben die Stäbchen viel Glykogen gespeichert. Nach 2—3 Tagen sind viele Stäbchen angeschwollen, mehr oder weniger abgerundet (Fig. H i, k, l, m), und es sind Sporangien entwickelt; die charakteristischsten und häufig vorkommenden Formen der letzteren sind etwas angeschwollen und abgerundet, wie Fig. P b, c, d; doch findet man auch häufig stäbchenförmige Sporangien wie Fig. O, P a, e. In Nährlösung V wird eine Kahnhaut entwickelt, welche aus 50-, 60- und mehrstäbigen Zellfäden besteht (Fig. R). Die Entwicklung in Nährlösung X geht sehr langsam und nur nach Impfen mit Stäbchenmaterial, von statten; nach 3—5 Tagen ist noch keine Kahnhaut entwickelt: nach einigen Wochen ist die Lösung stark getrübt, jedoch von unveränderter Farbe. Die Intensität des Wuchses in den Nährlösungen I, V, X = 3—4; III, IV, V β , VII = 0—1 ist charakteristisch-Agarstrichkultur. Nach 24 Stunden bei 28° sind erst tröpfchenförmige Kolonien entwickelt; nach 2 Tagen ist die Kolonie gleichmäßig häutig, fein runzlig, faltig. Möhrenkultur. Nach 3 Tagen ist eine dicke, glasig-durchsichtige, gekröseartig oder schlangenartig gewundene Kolonie entwickelt, nach 7 Tagen ist dieselbe porzellanartig-weißlich. Alkalibildung findet in Nährlösung X statt. Diastasebildung hat in Nährlösung X und V nicht stattgefunden. Die Gelatine wird verflüssigt.

Bacillus cohaerens A. M. et Gotthell (Fig. XII).

Möglicherweise synonym: *Bacillus bipolaris* Burchard. (Beitr. z. Morphol. u. Entwicklungsgesch. d. Bakt. Diss. 97. — Arb. a. d. bakt. Inst. d. techn. Hochschule z. Karlsruhe. Bd. II. 98. Heft 1. p. 34.) *Bacillus cylindrosporus* Burchard. (Arb. a. d. bakt. Inst. d. techn. Hochschule z. Karlsruhe. Bd. II. 98. Heft 1. p. 34.) *Bacillus filiformis* Tils (Bakteriol. Untersuchungen der Freiburger Leitungswässer. Zeitschr. f. Hygiene. 1890. p. 17.) *Bacillus vermicularis* Frankland. (Ueber einige typische Mikroorganismen im Wasser und im Boden. Zeitschr. f. Hygiene. Bd. VI. 1886. p. 384.) *Bacillus virgatus* Kern. (Beitrag z. Kenntnis der im Darne und Magen der Vögel vorkommenden Bakterien. Arb. a. d. bakt. Inst. d. techn. Hochschule z. Karlsruhe. Bd. 1. 1896. Heft 4. p. 416.) *Bacillus albolactus* o. (Eisenberg, Bakteriol. Diagnostik. 3. Aufl. 91. p. 110.)

Diese Species wurde auf *Brassica Rapa* und *Helianthus tuberosus* gefunden. Gelatineplattenkultur. Nach 3 Tagen werden weiße, unregelmäßig rundliche, oft eingebuchtete Kolonien entwickelt. Mikroskopisch betrachtet erscheinen die jüngeren Kolonien gleichmäßig körnig, graubraun, scharf umrandet, die älteren nach der Peripherie zu hell, streifig, unregelmäßig ausgebuchtet, gelappt. Die Gelatine wird später verflüssigt. Gelatinestichkultur. Nach einigen Tagen wird auf der Oberfläche der Gelatine ein weißlicher, rundlicher, unregelmäßig ausgebuchteter, gelappter, Belag entwickelt. Ungefähr nach 12 Tagen begann, bei normaler, relativ fester Gelatine die Verflüssigung derselben. Die Glaswand wurde von der verflüssigten Gelatine noch nicht erreicht; die Gelatine war erst in Form einer kleinen Schale, welche 0,5 cm im Durchmesser besaß, verflüssigt. Nach 28 Tagen war die Verflüssigungssäule 1,5 cm, nach 45 Tagen 2 cm hoch. Die verflüssigte Gelatine ist

schwach trübe, am Boden derselben sammelt sich ein flockiger, sedimentartiger, leicht aufschüttelbarer Satz an. Nach 8 Wochen war die Gelatine in 3 cm Höhe verflüssigt. Kahlhautbildung fand nicht statt; an der Gelatineoberfläche wurde öfters ein weißer Rand gebildet. Im Stichkanal findet keine Entwicklung statt. Agarstichkultur. Impft man die Agarfläche mit abgekochten Sporen, so wird nach 18—24 Stunden meistens eine dicke, glasige, homogene, schleimige Kolonie entwickelt, welche aus langen, vielstäbigen Zellfäden besteht. Nach 1—2 Tagen war die Kolonie häutig und meistens, jedoch nicht immer, faltig geworden. Nach 6—7 Tagen, bei 28° war die Wuchsform für diese Bakterien, welche ich von der weißen Rübe (*Brassica*) und von *Helianthus* isoliert hatte, sowohl auf dunklem, schwach alkalischem, altem Agar, als auch auf hellem, neutralem, frischem Agar folgende.

Die Kolonie, welche ich von Sporen erhielt, die ich von *Brassica* isoliert hatte, war nach 6—7 Tagen auf altem und braunem, wie frischem und hellem Agar gelblich-weiß, häutig, faltig und bestand aus vielen degenerierten Stäbchen und vielen Sporen. Die andere Kolonie, welche aus Sporen hervorgegangen war, die ich von *Helianthus* isoliert hatte, wurde nach 6—7 Tagen auf altem und braunem Agar vollständig flach, weißlich und bestand nur aus Sporen. Auf frischem und hellem Agar dagegen wurde aber auch nach 6—7 Tagen eine dicke, häutige, faltige Kolonie gebildet, welche ebenfalls aus vielen degenerierten Stäbchen und Sporen bestand. Nach dem Abkochen dieser auf frischem und hellem Agar entwickelten Sporen und Aufimpfen derselben auf alten, braunen Agar gelang es mir nicht wieder, nach 6—7 Tagen eine flache, weiße und aus Sporen bestehende Kolonie zu erhalten, sondern es wurde die dicke, faltige, häutige, aus vielen degenerierten Stäbchen und Sporen bestehende Kolonie gebildet. Daraus geht hervor, daß wir diese beiden Formen als Ernährungsmodifikationen ein und derselben Species betrachten können.

Ein Jahr später untersuchte ich *Bac. cohaerens* bezüglich der Wuchsform der Agarkolonie nochmals und fand, daß die bei 28° entwickelte Kolonie ebenfalls häutig, jedoch nicht so faltig wurde, wie ich es früher beobachtete. Viele Stäbchen schwärmten jetzt lebhaft. Bei Zimmertemperatur entwickelte Kolonien wurden jedoch stets wieder dicker häutig, runzlig, faltig. Auch konnte ich in diesem Material noch mehr der lebhaft beweglichen Schwärmer finden; die Schleimbildung tritt bei Zimmertemperatur langsamer und unregelmäßiger ein. Agarstichkultur: Auf der Oberfläche entwickelt sich eine häutige, wellige Kolonie. Im Stichkanal findet keine Entwicklung statt. Wachstum auf steriler Möhrenscheibe: Möhrenscheiben, von 3 cm Durchmesser, impfte ich mit 3 Monate alten abgekochten Sporen. Nach 12 Tagen war eine dicke, homogene, glasig-weißliche Kolonie von 1 cm Durchmesser entwickelt; dieselbe besteht aus meist vielstäbigen, unbeweglichen Zellfäden, deren Stäbchen stets vollständig homogen sind. Nach ungefähr 20 Tagen war die Kolonie grau und faltig geworden. Aeltere graue, faltige Kolonien sind zähe, nicht dünnflüssig; erst nach einigen Wochen wurden sie schmutzig-grau und dünnflüssig.

Kartoffelkultur. Nach 9 Tagen war eine flache, glasige, schleimige Kolonie entwickelt; nach 14 Tagen sind in derselben Sporen gebildet. Mehrere Monate später setzte ich *Bac. cohaerens* nochmals auf Kartoffel an. Nach 8 Tagen war eine grau-weißliche, teilweise runzlige Kolonie entwickelt.

Entwicklungsgang von *Bacillus cohaerens* auf Dextroseagar. Ich benutze zur Untersuchung 3 Monate altes oder älteres Sporenmateriel. Die Sporen sind $0,83-1 \mu$ breit und $1,7-2,2 \mu$ lang. Die in Fig. A a, b, c, d, e, f, g dargestellten Formen der Sporen sind als die normalsten anzusehen; andere noch vorkommende etwas kleinere und schmälere, längliche Formen sind in den Figuren B a, b dargestellt. In alten Kulturen fand ich stets vorherrschend große Sporen, wie Fig. A a, c, d; in jüngeren Kulturen Sporen, wie Fig. b, e, f. Im optischen Querschnitte erscheinen die Sporen rund (Fig. C). Ohne Anwendung eines Reagens ist die Sporenmembran meistens nicht sichtbar; durch Fuchsin oder Jodlösung tritt die relativ dicke Membran deutlich hervor (Fig. a, b); eine Differenzierung der Membran in Exine und Intine ist (mit Immersion Zeiß $\frac{1}{1,2}$, Ap. 1,3) nicht erkennbar. Die Sporen schwellen vor der Keimung meistens stark an (Fig. D). Sie keimen auf der Agarfläche nach 5—6 Stunden, bei 28° ; unter verdünntem Agar keimten die Sporen erst nach 8 Stunden. Ich untersuchte die Keimung in der feuchten Kammer, wie auch in der Weise, daß ich etwas von dem in Agar oder auf der Agarfläche gekeimten Sporenmateriel auf einen Objektträger brachte, ein Deckgläschen vorsichtig auflegte, und dann Keimstadien aufsuchte. Die Keimung fand vorherrschend polar, seltener bipolar und seitlich statt, wie die Fig. E a, b, c, d, e, f, g, h, i, k, l veranschaulichen. Die Keimstäbchen können bis vierlang werden, sie sind ungefähr $1,11 \mu$ breit, teilen sich bald und bilden Doppelstäbchen und mehrstäbige Zellfäden aus (Fig. E m, F a). Nach ungefähr 9 Stunden findet man meistens noch viele nicht gekeimte Sporen, Keimstäbe und wenige bis 12-, 15-, selten bis 20-stäbige Zellfäden, deren Stäbe 1- bis 2- und mehrlang sind und mit Chlorzinkjod häufig unseptiert erscheinen. Mit Formalin-Fuchsin sind jedoch Septierungen nachweisbar. Die Sporenmembran haftete häufig noch an diesen mehrstäbigen Zellfäden fest. Nach ungefähr 9—12 Stunden entwickeln sich lange Zellfäden, oft von etwas schwankender Dicke. Besonders reichlich kann man letztere beobachten nach 5—6-stündiger Entwicklung abgekochter Sporen bei 28° und nach 14-stündiger Weiterentwicklung dieser dann vorhandenen Keimstadien bei Zimmertemperatur von ungefähr 15° . Die oft schlangenartig gewundenen, meist nur relativ wenig glykogenhaltigen Zellfäden, welche bereits relativ dünne und kurze Geißeln entwickelt haben, werden 20-, 50-, 100- und mehrlang und 1- bis vielstäbig. Die Stäbe dieser Zellfäden sind oft von wechselnder Länge und Dicke (Dicke derselben s. Fig. F a, S, T, U) und zeigen mit Chlorzinkjod häufig Septierungen; es sind die dann so sichtbaren Zellen meistens ungefähr 2-lang. Außerdem fanden sich häufig, jedoch vereinzelt, dicht spiralig, korkzieherartig gewundene Fäden.

(Schluß folgt.)

44*

Referate.

Iwanoff, K. S., Die im Sommer 1898 bei Petersburg beobachteten Krankheiten. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1900. p. 97.)

Das naßkalte Wetter des Sommers begünstigte die Entwicklung der Parasiten ungemein, so daß 160 Arten auf Wirtspflanzen zur Beobachtung gelangten.

Auf den Getreidearten wurden *Puccinia graminis*, *Ustilago nuda*, *U. Avenae* u. a. beobachtet, merkwürdigerweise fehlte *P. coronifera*, obwohl die *Aecidia* auf *Rhamnus Frangula* massenhaft vorkamen.

Auf wilden Gräsern kam *Erysiphe communis*, *Claviceps purpurea* vor, *Glyceria fluitans* war von *Ustilago longissima* befallen.

Auf Klee waren *Erysiphe Martii* und *Uromyces apiculatus* häufig, seltener *Phyllachora Trifolii*.

Die Kartoffeln hatten von der Bakteriosis sowie vom Schorf zu leiden.

Plasmodiophora Brassicae war häufig. *Bacillus tracheiphilus* schädigte die Gurken. *Puccinia Allii* kam auf *Allium sativum* vor.

Die Obstbäume waren hauptsächlich von *Fusicladium dendriticum* und *Monilia fructigena* befallen. Auf den Ebereschen war die *Roestelia* häufig, obwohl kein Wachholder in der Nähe wächst. Verf. vermutet, daß es eine bisher unbekanntes *Gymnosporangium*-Art auf der Tanne giebt, die zugehörig ist.

Auf dem Beerenobst fanden sich *Aecidium Grossulariae*, *Phyllosticta Grossulariae* und *P. ribicola* häufig bei *Ribes*-Arten. *Phragmidium Rubi Idaei* auf Himbeeren, *Sphaerella Fragariae* auf Erdbeeren, *Melampsora Vaccinii* und *Podosphaera myrtillina* auf *Vaccinium* u. s. f.

Auch den Gartenpflanzen wurde vielfacher Schaden zugefügt. *Cercospora Resedae* war sehr verderblich auf der *Reseda*. Diese bisher nur in Nordamerika beobachtete Krankheit hat Verf. genauer studiert und Infektionen angestellt, die Erfolg hatten. *Botrytis cinerea* schädigte die *Primula*-Arten. Sehr häufig war *Capnodium salicinum* auf vielen Bäumen.

Bei Holzgewächsen wurden viele Parasiten beobachtet. Junge Tannen litten an *Septoria parasitica*. Auf die durch *Polyporus*-Arten und *Ascomyceten* verursachten Schädigungen soll hier nicht eingegangen werden.

Wildwachsende Kräuter hatten viele Parasiten. Verf. beobachtete 3 neue Arten. *Ramularia Trollii*, *Ramularia Oenotherae biennis* und *Ascochyta Doronici*.

Lindau (Berlin).

Fischer, Ed., Fortsetzung der entwicklungsgeschichtlichen Untersuchungen über Rostpilze. (Berichte der schweiz. botan. Gesellsch. 1901. Heft 10.)

Zur Ergänzung seiner entwicklungsgeschichtlichen Untersuchungen über Rostpilze beschreibt Verf. einige Versuche, durch die es ihm gelungen ist, nachzuweisen, daß *Puccinia obtusata* auf *Rumex obtusifolius* und *R. acetosa* keine Aecidien bildet, somit nicht identisch ist mit *P. phragmitis* und *P. Trailii*; ebenso konnte er erneut beweisen, daß das *Aecidium Ligustri* wirklich zu *Puccinia obtusata* auf *Phragmites communis* gehört. Versuche, *Aecidium Ligustri* auf *Phalaris arundinacea* überzupfen, hatten keinen Erfolg; da auch im Freien *Ph. arundinacea* in der Nähe von mit *Puccinia obtusata* besetzten *Phragmites* stets frei befunden wurde, so ist der Schluß wohl gerechtfertigt, daß *Pucc. obtusata* nicht auf *Phalaris* übergeht. Die noch fehlende Beschreibung des *Uredo* giebt Förster folgendermaßen:

Uredolager braun, von gelblich verfärbtem Hofe umgeben. Uredosporen kugelig, Durchmesser meist 21—25 μ ; Membran dick, hellgelbbraun mit weit (2—3 μ) voneinander entfernten kleinen konischen Warzen besetzt und mit 2 seitlichen, einander ungefähr gegenüberliegenden Keimsporen. Inhalt farblos. Die Teleutosporen entstehen in den gleichen Lagern wie die Uredosporen. — Mit *P. Tepperi* und *P. torosa* ist *P. obtusata* nicht identisch.

Der zweite Teil der Arbeit beschäftigt sich mit Infektionsversuchen mit *Puccinastrum Epilobii*. Verf. bestätigt hierin die Resultate Klebahn's, der bekanntlich gefunden hatte, daß *P. Epilobii* seine Aecidien auf der Weißtanne bildet.

Appel (Charlottenburg).

Klebahn, H., Kulturversuche mit Rostpilzen IX. (Pringsheim's Jahrb. Bd. XXXV. 1900. p. 660. Mit 7 Textfig.)

Verf. hat in erster Linie seine vorjährigen Untersuchungen über Melampsoren fortgesetzt.

1) Weidenmelampsoren mit *Caeoma* auf *Ribes* — *Melampsora Ribesii-viminalis* erzeugte auf *Ribes Grossularia*, *rubrum*, *aureum*, *nigrum*, *alpinum* und *sanguineum* das *Caeoma*, umgekehrt gelang die Infizierung nur bei *Salix viminalis*. — Eine *Melampsora* auf *Salix purpurea* erzeugte *Caeoma* auf *Ribes Grossularia*, *alpinum* und *sanguineum*, während die Rückinfektion Erfolg bei *Salix purpurea* und *mollissima* hatte. Da auch einige morphologische Unterschiede gegenüber der ersteren Art vorhanden sind, so bezeichnet Verf. sie als *M. Ribesii-Purpureae*. — Eine weitere neue Art ergab die Aussaat von *Caeoma*-Sporen auf *Ribes nigrum*. Infiziert wurde *Salix aurita* und mit den Uredosporen von dieser Art auch noch *S. cinerea* und *S. Caprea*. Diese Art wird *Ribesii-Auritae* genannt.

2) *Melampsora Allii-Fragilis* n. sp. bildet die *Uredo*-

und Teleutosporen auf *Salix fragilis* und *S. fragilis* × *pentandra*, während das *Caeoma* bisher nur auf *Allium vineale* und *sativum* gezogen wurde.

3) Auf *Salix alba* wurde eine *Melampsora* entdeckt, deren *Caeoma*-Wirt trotz zahlreicher Versuche bisher nicht gefunden wurde. Sie weicht morphologisch so ab, daß Verf. sie als neue Art, *M. Salicis albae*, aufstellt.

Damit sind 3 weitere Weidenmelampsoren zu den bisher unterschiedenen hinzugekommen, und es rechtfertigt sich, wenn Verf. in einer Tabelle eine Uebersicht giebt. Ihrer Wichtigkeit wegen sei sie hier wiederholt.

- I. Uredosporen länglich, am oberen Ende glatt.
 - A. Teleutosporen unter der Epidermis.
 - a) Teleutosporen auf der Blattunterseite.
 - α) Autöcisch.
 - 1) *M. Amygdalinae*.
 - β) Heteröcisch.
 - 2) *M. Larici-Pentandrae*.
 - b) Teleutosporen auf beiden Blattseiten.
 - 3) *M. Salicis albae*.
 - B. Teleutosporen zwischen Epidermis und Cuticula, auf beiden Blattseiten.
 - 4) *M. Allii-Fragilis*.
 - II. Uredosporen rund, ohne glatte Stelle.
 - A. Teleutosporen mit oben stark verdickter Membran und auffälligem Keimporus, zwischen Epidermis und Cuticula, auf der Blattoberseite.
 - 5) *M. Larici-Caprearum*.
 - B. Teleutosporen ohne starke Membranverdickung, Keimporus nicht auffällig.
 - a) Teleutosporen zwischen Epidermis und Cuticula, auf der Blattoberseite.
 - 6) *M. Ribesii-viminalis*.
 - b) Teleutosporen unter der Epidermis.
 - α) Teleutosporen auf beiden Blattseiten.
 - 7) *M. Ribesii-Purpureae*.
 - β) Teleutosporen nur unterseits.
 - 1) *Caeoma* auf *Larix*.
 - 8) *M. Larici-epitea*.
 - 9) *M. Larici-daphnoidis*.
 - 2) *Caeoma* auf *Ribes*.
 - 10) *M. Ribesii-Auritae*.
 - 3) *Caeoma* auf *Evonymus*.
 - 11) *M. Evonymi-Caprearum*.
 - 4) *Caeoma* auf *Saxifraga*.
 - 12) *M. alpina* Juel.
 - 5) *Caeoma* auf *Orchidaceen*.
 - 13) *M. Orchidi-repentis* (Plowr.).

4) Ueber andere Weidenmelampsoren sind zahlreiche Versuche angestellt worden. *M. Larici-epitea* wurde auf eine

große Reihe von *Salix*-Arten übertragen, davon sind *S. daphnoides* und *acutifolia* neue Nährpflanzen. *M. Larici-Caprearum* aus England infizierte, wie die deutsche Art nur *Salix Caprea* und *aurita*. *M. Larici-Pentandrae* gab nur auf *Salix pentandra* und *S. fragilis* × *pentandra* erfolgreiche Infektionen. *M. Evonymi-Caprearum* wurde auf *S. Caprea*, *aurita* und *cinerea* var. *tricolor* erzogen.

5) Mit Melampsoren auf *Populus*-Arten sind zahlreiche Versuche angestellt, die die Zusammengehörigkeit mit den *Caecoma*-Wirten näher prüfen sollten. Auch hier wurden mehrere neue Resultate erzielt.

6) Von den Kiefernrosten wurden Rindenroste besonders bevorzugt. *Peridermium Pini* wurde zur Aussaat auf sehr vielen Pflanzen benutzt, aber selbst auf *Sorbus*, *Vincetoxicum* und *Ribes* wurde kein Erfolg erzielt.

7) *Pucciniastrum Epilobii* von *Epilobium angustifolium* infizierte nur diese Art, aber keine andere.

8) *Aecidium strobilinum* hängt mit *Thecopsora Padi* zusammen, wie schon früher vom Verf. vermutungsweise geäußert und inzwischen durch Tubeuf nachgewiesen wurde. Ueber diesen Pilz werden weitere histologische Details mitgeteilt.

9) *Aecidium elatinum* infizierte die verwendeten *Sorbus*-Arten, dagegen andere Bäume nicht.

10) Mit Pilzen aus der *Puccinia Ribesii-Caricis*-Gruppe wurden viele Versuche gemacht. *Puccinia Ribis-nigri-Paniculatae* erzeugte Aecidien auf *Ribes nigrum*, *sanguineum*, *alpinum*, *rubrum* und *aureum*, umgekehrt wurden *Carex paniculata* und *paradoxa* infiziert. — *Puccinia Ribesii-Pseudocyperi* ergab keine weiteren Resultate. — *Puccinia Pringsheimiana* wurde aus Aecidien auf Stachelbeeren und von da auf *Carex stricta* und *caespitosa* übertragen.

11) Puccinien auf *Phalaris arundinacea*. Seit 1892 hatte Verf. eine Art nur auf *Polygonatum multiflorum* als Zwischenwirt kultiviert. Aussaaten auf *Convallaria*, *Paris* und *Majanthemum* blieben daher auch ohne Erfolg. Umgekehrt infizierte eine *Puccinia* alle 4 Aecidienwirte, nachdem sie im Jahre vorher schon dasselbe gethan hatte. Eine andere infizierte außer diesen Wirten noch *Orchis militaris* und *Platanthera chlorantha*, ohne daß sich die Ursache dieses merkwürdigen Verhaltens feststellen ließ.

12) *Puccinia Magnusiana* ergab wieder Aecidien auf *Ranunculus repens* und *bulbosus*.

13) Auf *Angelica silvestris* wurde ein *Aecidium* gefunden, das auf *Polygonum Bistorta* und *viviparum* Uredo- und Teleutosporen erzeugte. Der Pilz ist sehr nahe übereinstimmend mit *P. Polygoni vivipari* Juel.

Lindau (Berlin).

Klebahn, H., Beiträge zur Kenntnis der Getreideroste. II.
(Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1900. p. 70.)

Verf. teilt wieder eine ganze Reihe von höchst interessanten und mühevollen Versuchen mit, die er im Sommer 1899 mit heteröcischen Rostpilzen ausgeführt hat.

Die umfangreichsten Versuchsreihen umfaßten das spontane Auftreten der Getreideroste. Die Pflanzen wurden im Freien ohne Schutz erzogen oder durch weite Glasröhren, die oben und unten mit Watte abgedichtet waren, geschützt oder endlich in Glaskästen gezogen. Die Versuche erstreckten sich auf mehrere Varietäten von Roggen, Weizen und Gerste und ergaben, daß die Kulturen in Glasröhren rostfrei waren, daß dagegen die im Freien kultivierten Exemplare von Rost befallen wurden. Die in den Glaskästen wachsenden Pflanzen zeigten sich mehrmals von Rost infiziert, indessen dürfte hier die Annahme Klebahn's sicher richtig sein, daß eine Infektion durch Sporen vorliegt, die durch feine Ritzen in den Kästen eingedrungen sind.

Eine weitere Versuchsreihe wurde gemacht, um die Infizierbarkeit der Teleutosporennährpflanze durch Sporidien zu prüfen. Die Experimente wurden mit *Puccinia graminis*, *Melampsora Ribesii-Viminalis*, *Melampsora Larici-Capreae*, *Thecopsora Padi* und *Puccinia Polygoni* vorgenommen und ergaben ein völlig negatives Resultat.

Da sich in den Glaskästen Infektionen durch Rost bemerkbar gemacht hatten, so versuchte Verf. nachzuweisen, daß Sporen in der Luft vorhanden sind. Zu diesem Zwecke untersuchte er die Watteverschlüsse der Glasröhren und fand neben zahlreichen Schimmelpilzsporen auch eine große Menge von Rostpilzsporen.

Es wurden dann mehrere Aussaaten gemacht, um den Wirtswechsel der Getreideroste von neuem zu studieren. *Puccinia graminis* wurde auf Berberitze übertragen und mit den Aecidiosporen Winterroggen infiziert. Die Infektion blieb nur spärlich. *Puccinia dispersa* wurde auf *Anchusa* übertragen und reichliches Aecidienwachstum erzielt; derselbe Versuch fiel mit *Puccinia triticina* und *simplex* negativ aus. Umgekehrt gelang mit *Anchusa*-aecidien nur die Infektion von Roggen.

Im Herbst 1898 wurde eine Anzahl von perennierenden Gräsern, die stark mit Rost bedeckt waren, in Töpfe gepflanzt und im Freien überwintert; im nächsten Sommer blieben die Pflanzen rostfrei.

Die Aussaaten von Samen, die von rostkranken Pflanzen stammten, fielen sämtlich negativ aus.

Verf. experimentierte mit Gelbrost, bei dem er ein bemerkenswertes Verhalten feststellte. Die Keimungsbedingungen dieser Art scheinen nämlich verwickelter zu sein, dafür aber breitet sich das Mycel im Blatt weiter aus, als man sonst von Getreiderostpilzen gewöhnt ist. Zur Anatomie dieser Art macht Verf. mehrere interessante Bemerkungen. Er hat das Verhalten des Mycels näher studiert und findet die Unterschiede gegenüber dem anderer Getreideroste sehr bedeutend. Die Hyphen sind sehr dick und füllen

die Intercellularen völlig aus; sie sind mit dichtem Plasma erfüllt und zeigen mehr Zellkerne als gewöhnlich. Unterhalb der Uredolager sind sie durch häufige Querwände gegliedert und die Zahl der Zellkerne reduziert sich auf die gewöhnliche Zahl. Er glaubt, bei dieser Art das *Mycoplasma Eriksson's* gefunden zu haben. Es sind dies nur die Haustorien, die bei bestimmter Lage der Zellen frei im Kern zu schwimmen scheinen. (Sollte sich das wirklich bestätigen, so würde das ein höchst eigentümliches Licht auf die Genauigkeit der Beobachtungen Eriksson's werfen. Ref.)

Zum Schluß verbreitet sich Verf. noch einmal über die von ihm gewonnenen Resultate und faßt sie schließlich in knapper Form zusammen. Er sagt:

1) Die bisher angestellten Versuche sprechen nicht für die Annahme, daß die Sporidien der Getreideroste die Getreidepflanzen zu infizieren vermögen, und durchaus dagegen, daß die Sporidien anderer heteröcischer Rostpilze deren Teleutosporenwirt infizieren können.

2) Die bisher angestellten Kulturversuche mit Getreidepflanzen im keimfreien Raume sowie die Aussaatversuche mit Samen rostkranker Pflanzen sprechen sehr wenig für die Hypothese, daß die Rostkrankheiten mittels der Samen übertragen werden können.

3) Soweit die letztgenannten Versuche positiv ausgefallen sind, liegt der dringende Verdacht vor, daß unkontrollierte Infektionen eingetreten sind. Der Nachweis für die Uebertragbarkeit des Rostes mit dem Samen kann ohne mikroskopische Untersuchung überhaupt nicht unanfechtbar geführt werden.

4) Falls die Rostkrankheiten in vereinzelten Fällen doch mittels der Samen übertragen werden können, muß man auf Grund des bisher bekannt gewordenen Verhaltens der Rostpilze erwarten, daß dieselben sehr frühzeitig zum Ausbruch kommen.

5) Die bisherige Lehre, daß der Getreiderost durch Infektion mittels vom Winde (oder durch Tiere) umhergeführter Sporen entsteht, enthält eine kräftige Stütze durch den gelungenen Nachweis, daß in dem aus der Luft abgesetzten Staube Getreiderostsporen und andere Rostsporen in nicht unbedeutender Menge vorhanden waren. Der erzielte Erfolg ermutigt zu weiteren Untersuchungen nach dieser Richtung.

6) Es erscheint daher keineswegs gerechtfertigt, die Bedeutung der Aecidien zu unterschätzen, und es muß für höchst wünschenswert erklärt werden, sie auch für diejenigen Getreidesorten aufzusuchen, für welche man sie noch nicht kennt.

7) Nur der Braunrost des Roggens (*Puccinia dispersa* Eriksson) steht mit dem *Aecidium* auf *Anchusa arvensis* und *officinalis* in Zusammenhang, nicht der Braunrost des Weizens (*P. triticina* Eriksson) und der Zwergrost (*P. simplex* [Körn.] Er. et H.).

8) Der Gelbrost (*P. glumarum* [Schmidt] Er. et H.) zeigt in anatomischer und biologischer Beziehung Besonderheiten, die eine noch eingehendere Untersuchung desselben wünschenswert machen.

9) Die bisher vorliegenden Erfahrungen geben keine Anhaltspunkte dafür, daß Rostpilze von kurzer Dauer (als solche ohne perennierendes Mycel) in perennierenden Pflanzen Keime zurücklassen, aus denen sich in der folgenden Vegetationsperiode die Rostkrankheit ohne Neuinfektion wieder entwickeln könnte.

Lindau (Berlin).

Jacky, Ernst. Der Chrysanthemum-Rost. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. X. 1900. Heft 3 u. 4. p. 132—142. Mit 6 Figuren.)

Der Chrysanthemum-Rost, *Puccinia Chrysanthemi* Roze, dürfte in England zuerst 1895 als Schädling beobachtet worden sein und ist wahrscheinlich aus Japan eingeschleppt worden, wo er nach Miyoshi „sehr häufig und wohl bekannt“ ist. Um 1897 oder 1898 scheint er seinen Einzug auf dem Kontinent, speziell in Deutschland gehalten zu haben. In Frankreich trat er zuerst 1897 auf, nach Rostrup auch in Dänemark. Sorauer schrieb 1899 aus Berlin: „Der Rost hat seit den wenigen Jahren ungemein schnell an Ausbreitung in den deutschen Chrysanthemum-Kulturen zugenommen. Soweit ich erfahren, ist derselbe mit englischen Neuheiten nach dem Festlande gekommen.“ Da es ursprünglich wahrscheinlich war, daß der Rost mit einem der bekannten Kompositenroste, namentlich mit *Puccinia Tanaceti* DC. oder *P. Balsamitae* (Strauß) Rabenh., identisch sei, stellte Verf. mannigfache Impfversuche an, welche aber deutlich bewiesen, daß der Rost auf *Chrysanthemum indicum* spezialisiert ist. Der Pilz entwickelte sich stets nur auf *Chr. indicum*, nie auf *Chr. frutescens*, *Chr. Leucanthemum*, *Chr. uliginosum*, *Tanacetum vulgare*, *T. Balsamita*, *Artemisia campestris*, *Hieracium aurantiacum*, *Taraxacum officinale*. Weiter ergaben die Kulturen, daß der Pilz im Zimmer oder Glashause namentlich mittels der Uredosporen auf den Wurzelschossen überwintert. Die Uredosporen der einheimischen Form fand Verf. — im Gegensatz zu Dietel — in Form, Farbe und Größe völlig übereinstimmend mit denen japanischer Herkunft. Es scheint für die Species die Bildung zweizelliger Uredosporen, die sich dann und wann neben den einzelligen, besonders in kräftig entwickelten Lagern, vorfinden, charakteristisch zu sein. Sie keimten stets vegetativ aus, ohne jegliche Sporidienbildung. Verf. fand weder auf lebendem, den Winter über im Zimmer kultivierten, noch auf krankem *Chrysanthemum*, noch auf abgeschnittenen und im Freien überwinterten rostbefallenen Blättern Teleutosporen. Dagegen gelang es Roze, auf Pflanzen, die er im Glashause überwinterte, in besonders kräftigen Uredolagern ganz vereinzelt Teleutosporen und zwar einzelne *Uromyces*-artige als auch zweizellige von sehr wechselnder Gestalt aufzufinden. In ihnen erblickt Verf. Kümmerformen und er nimmt an, daß der aus Japan nach Europa eingeschleppte Pilz bei uns in den meisten Fällen die Fähigkeit, Teleutosporen zu entwickeln, eingebüßt hat. Durch Kultur ist freilich bis jetzt die Identität der europäischen

Form mit der japanischen, die in Japan selbst als *Puccinia Tanacetii* DC. angesprochen wird, aber noch mehr Aehnlichkeit mit *P. Balsamitae* (Strauß) Rabenh. hat, noch nicht erwiesen worden.

Gegen das Auftreten des *Chrysanthemum*-Rostes empfiehlt der Verf. folgende Vorbeugungsmittel:

Man vermeide, *Chrysanthemums* aus einer verseuchten Gärtnerei zu beziehen. Ist der Pilz bereits vorhanden, so entferne man und verbrenne sorgfältig die erkrankten Blätter. Stark infizierte Pflanzen sind ganz zu vernichten. Die erkrankten Stöcke sind zu isolieren. Ihre Wurzelschosse sind im folgenden Jahre nicht als Stecklinge zu verwenden. Zuverlässige Untersuchungen über die Wirkung der von den Engländern empfohlenen Bekämpfungsmittel, wie Kupferlösungen, Kupferkalkbrühe, Parisergrün, Petroleumemulsion, Schwefelkalium etc. stehen noch aus, doch dürfte unter ihnen Bordeauxbrühe noch am ersten zu empfehlen sein. Nach englischen Angaben sind gewisse Varietäten des *Chr. indicum* besonders empfänglich für den Pilz, wie *The Queen*, *Souvenir de petite amie*, *Modesta* etc.

Ludwig (Greiz).

Rick, J., Eine neue *Sclerotinia*-Art. (Oesterr. bot. Zeitschr. Jahrg. L. No. 4.)

Unter dem Namen *Sclerotinia Bresadolae* beschreibt Verf. eine neue *Sclerotinia*-Art, die auf Eichenknospen und auf den von *Dryoteras terminalis* erzeugten Zellen vorkommt. Die Eigenschaften dieser Art, die in mancher Beziehung an *Sclerotinia Candolleana* Lév. erinnert, gehen aus folgender Diagnose hervor:

Apothecia gregaria, e *sclerotio exterius nigro, interius albescente, rugoso, ovali, fere sphaerico, diametro 2 mm provenientia*; *primitus calyciformia, demum disciformia, margine tenero, hyalino-fusca vel pallida, stipite tenuissimo, filiformi, 1—5 cm longo, villosa, versus discum fere lanuginosa*; *1—5 mm lata, ceracea, mollia. Asci cylindrati 70—80 μ longi, 6—7 μ lati, 8 sporis, poro rotundato, jodo coerulescente. Sporae ovales, uno apice paulo latiores, hyalinae, 6—8 μ longae, 3—4 μ latae. Paraphyses hyalinae, filiformes, versus finem — 3 μ latae.* Appel (Charlottenburg).

Matzdorff, Kerfschädigungen in Kanada während 1898. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1900. p. 24.)

Verf. giebt nach einer Arbeit von Fletcher eine Uebersicht über die Schädlinge.

Auf Weizen fanden sich *Diplosis Tritici*, *Cecidomyia destructor*, *Meromyza americana*, *Oscinis carbonaria*, *Isosoma spec.*, *Siphonophora Avenae*, *Cephus pygmaeus*, Raupen von *Hadena* und *Caloptenus spretus*.

Erbsen litten von *Semasia nigricana* und *Bruchus pisorum*, Bohnen von *Bruchus obtectus*, Mohrrüben von *Psila Rosae*, Rüben von *Aphis Brassicae* und Kohl von *Phorbia Brassicae*.

Kartoffeln beherbergten *Poecilocapsus lineatus*.

An Äpfeln fanden sich *Argyresthia conjugella*, *Graptolitha prunivora* und Raupen.

Stachelbeeren wurden von *Xylocorius Agassizii* angegriffen.
Lindau (Berlin).

Escherich, K., Ueber das regelmäßige Vorkommen von Sproßpilzen in dem Darmepithel eines Käfers. (Biolog. Centralbl. Bd. XX. 1900. p. 350—358. 6 Fig.)

Zu der schon früher sichergestellten Beobachtung (Metschnikoff), daß in den Geweben lebender warm- und kaltblütiger Tiere gewisse Hefen (*Saccharomyces*, *Monospora*) parasitisch leben und zur Fortentwicklung kommen, bringt E. einen weiteren Beitrag. Im Jahre 1899 hat Karawaiew in gewissen „grobkörnigen“ Zellen des Mitteldarmepithels von *Anobium paviceum* parasitische Organismen von Keulenform entdeckt, denen er nach Bau und Lebenserscheinungen (Kopulation) tierische Natur zuschrieb; er war speziell geneigt, sie den Flagellaten zuzuschreiben. Dagegen brachte eine Nachuntersuchung E. zu der Ueberzeugung, daß es sich um Pilze und zwar um *Saccharomyceten* handelt, wie denn die von K. angenommene Kopulation sich als reine Sprossung entpuppte; die Kulturversuche mit freien Hefezellen lieferten nach 8 Tagen kettenartige Verbände. Im Gegensatz zu den bisher bekannten Fällen von Hefeinfektion konnte festgestellt werden, daß die Hefe bei der Larve wie bei der Imago von *Anobium* regelmäßig vorkommt und infolgedessen als normaler Bestandteil der Mitteldarmwand betrachtet werden muß, dort aber auf ganz bestimmte, scharf umschriebene Stellen der Darmwand lokalisiert ist; die histologischen Eigenschaften dieser Epithelien werden genauer beschrieben. Während die Beobachtungen gegen die Annahme eines Parasitismus sprechen, vermutet E., daß es sich um ein gewisses Abhängigkeitsverhältnis zwischen den beiden Organismen handelt, wobei die Hefe wahrscheinlich an der Verdauung beteiligt ist. Für letztere Vermutung spricht der Umstand, daß der Pilz am zahlreichsten bei der Larve vorkommt, der ja das Haupternährungsgeschäft zufällt, nächst dem bei der Imago, während er während der Puppenzeit bis auf einzelne kleine Nester verschwindet; demnach würde zwischen dem Grade der Nahrungsaufnahme und der Lebhaftigkeit der Hefevegetation ein direktes Verhältnis bestehen. E. vermutet sogar aus gewissen unmittelbaren Wahrnehmungen, daß dabei Buttersäure gebildet werde. Offen bleibt die Frage, ob der Hefepilz mit der Nahrung aufgenommen, vom Darmlumen aus in die Epithelzellen einwandert, oder ob er von Generation zu Generation durch die Eier übertragen wird, dem gegenüber sich Verf. für die letztere Annahme in Anbetracht des regelmäßigen Vorkommens der Hefe und der Verschiedenartigkeit der aufgenommenen Nahrung ausspricht.

Arnold Jacobi (Berlin).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Pfuhl, A., Ueber das Schumburg'sche Verfahren zur Wasserreinigung. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXIII. p. 53—88.)

Verf. prüft das Schumburg'sche Bromverfahren an einer Reihe verschiedener Wässer, zum Teil unter schwersten Bedingungen. Dabei berücksichtigt er hauptsächlich die im Handel befindlichen Formen der Bromlösungen und Neutralisationssalze. Als Wasser dienen ihm: Leitungswasser der städtischen Wasserleitung zu Hannover, Wasser aus dem Ihmefluß, der Leine, Teichwasser aus Linden und Herrenhausen, sowie Wasser von überschwemmten Wiesen. Zugesetzt wurden den Wässern Reinkulturen von Cholera- und Typhusorganismen verschiedener Herkunft, sowie solche von *Staphylococcus pyogenes aureus*. Im ganzen wurden 61 Versuche und 53 Kontrollversuche ausgeführt.

Bei dieser großen Zahl von Versuchen ergaben sich nur 6 Fehl- und 4 zweifelhafte Resultate, die jedoch auf Besonderheiten der Versuchsanordnung selbst zurückzuführen waren. Dabei zeigte sich, daß eine besondere Sorgfalt auf die genügende Durchmischung gleich nach dem Bromzusatz verwendet werden muß. Die Auflösung des Neutralisationssalzes muß natürlich stets in völlig einwandfreiem Wasser erfolgen. Es empfiehlt sich im allgemeinen, mehr als 10 ccm Bromlösung auf 1 l Wasser zuzusetzen; einen Anhalt giebt die bei genügendem Zusatze eintretende Gelbfärbung, die 2—3 Minuten bestehen bleiben muß. Im allgemeinen beansprucht ein Wasser um so mehr Brom, je höher sein Gehalt an organischer Substanz ist. Da Brom aus konzentrierten Lösungen außerordentlich rasch verdunstet, ist ein rasches Arbeiten nötig. Bei der Herstellung der Stammlösung aus der in Glasröhrchen eingeschmolzenen Urlösung ist stets zu beachten, daß Bromdampf auf die Schleimhäute stark reizend wirkt, es ist deshalb das Bromieren des Wassers am besten im Freien vorzunehmen und auch hierbei ein Einatmen der Dämpfe möglichst zu vermeiden.

Im weiteren Verlaufe der Arbeit schildert Verf. noch ausführlich die Art der Anwendung des Bromverfahrens durch die Truppen, sowie auf Expeditionen, und bespricht verschiedene Formen der Verpackung und Dosierung der dazu nötigen Chemikalien und Apparate.

Appel (Charlottenburg).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. ARTHUR WÜRZBURG,
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Fraum, Einfacher Apparat zur Entnahme von Wasserproben aus größeren Tiefen. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXIX. 1901. No. 25. p. 994—996.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Braun, M., Zur Revision der Trematoden der Vögel. II. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXIX. 1901. No. 23, 24. p. 895—897, 941—948.)

Cockerell, T. D. A. and Parrott, P. J., Table to separate the genera and subgenera of Coccidae related to Lecanium. (Canad. entomologist. 1901. No. 2. p. 57—58.)

Green, E. E., Description of a new species of *Ripersia* (*sacchari* n. sp.) destructive to sugarcane. (Ind. mus. notes. Vol. V. 1900. No. 2. p. 37—38.)

Hempel, A., Descriptions of Brazilian coccidae. (Annals of nat. history. 1901. Jan. p. 110—125.)

King, G. B., Coccidae of the Harvard botanical gardens. (Psyche. Vol. IX. 1901. No. 297. p. 153—154.)

Klein, E., Zur Kenntnis und Differentialdiagnose einiger Anaërobier. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXIX. 1901. No. 25. p. 991—994.)

v. Linstow, *Taenia asiatica*, eine neue Tãnie des Menschen. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXIX. 1901. No. 25. p. 982—985.)

Lister, A., Notes on mycetozoa. (Journ. of botany Brit. and foreign. 1901. No. 459. p. 81—90.)

Scalia, S., I funghi della Sicilia orientale e principalmente della regione etnea. I. serie. (Atti d. Accad. Gioenia di scienze. natur. in Catania. Ser. 4. Vol. XIII. 1900.)

Scott, W. M., Notes on coccidae of Georgia. (Proceed. of the 12. annual meet. of econom. entomol. 1900. p. 49—54.)

Tassi, Fl., Micologia della Provincia senese. [10. pubbl.] (Bullett. d. laborat. ed orto botan. Siena. Vol. III. 1900. Fasc. 3/4. p. 104—114.)

Thornley, A., *Lathridius Bergrothi* Reitt. and other beetles in a herbarium. (Entomol. monthly magaz. 1901. Jan. p. 18.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Boden.

Malpeaux, L., Nouvelles recherches sur l'inoculation du sol avec l'alinite. (Annal. agronom. 1901. No. 4. p. 191—206.)

Rullmann, W., Ueber einen in Erde und Fehlboden vorkommenden sporenbildenden *Bacillus*. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXIX. 1901. No. 25. p. 969—972.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitsserregende Bakterien und Parasiten.

Beare, T. H., Asparagus beetles in Canada. (Entomol. Record. Vol. XII. 1900. No. 11. p. 291.)

Bernard, M., Sur la tuberculisation de la pomme de terre. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXII. 1901. No. 6. p. 355—357.)

- Bubák, Fr.**, Ueber Milben in Rübenwurzelkröpfen. (Oesterr.-ungar. Ztschr. f. Zuckerindustrie u. Landwirtsch. 1901. Heft 2. p. 237—239.) — Erwiderung von **A. Stift.** (Ibid. p. 240—242.) — Bemerkungen von **F. Strohmer.** (Ibid. p. 243—245.)
- Carruthers, W. and Smith, L.**, A disease in turnips caused by bacteria. (Journ. of botany Brit. and foreign. 1901. No. 457. p. 33—36.)
- Casali, C.**, Rassegna dei principali casi fitopatologici studiati nel triennio 1898—1900 nel Laboratorio di patologia vegetale della R. Scuola di viticoltura ed enologia di Avellino. (Bollett. di notiz. agrar. 1901. No. 3. p. 73—97.)
- Cavassa, D.**, La lotta contro la fillossera nel 1899. (Annali e ragguagli dell'uffic. provinc. per l'agricolt. etc. di Bologna. 1899/1900. Anno VII/XXIX.)
- Cockerell, T. D. A.**, A new cecidomyiid on Gutierrezia. (Canad. entomol. 1901. No. 1. p. 23.)
- Delacroix, G.**, Rapport sur les traitements à appliquer aux maladies qui attaquent le champignon de couche dans les environs de Paris. (Bullet. du Ministère de l'Agricult. Paris 1900. No. 5. p. 889—899.)
- Elenco dei comuni fillosserati o sospetti di infezione fillosserica al 31 dicembre 1900, da cui territori è vietato di asportare vegetali in conformità dei decreti ministeriali in data 6 luglio 1892 e 30 novembre 1895. (Bollett. di notizie agrar. 1900. No. 34. p. 1467—1479.)
- van Hall, C. J. J.**, Twee bacteriënziekten. (Tijdschr. over plantenziekten. 1900. Afl. 5/6. p. 169—178.)
- Hillmann, P.**, Die Bekämpfung des Unkrautes. (Mitteil. d. dtsh. Landwirtsch.-Ges. 1901. No. 22. p. 113—115.)
- Hollrung**, Einige Mitteilungen über das Auftreten von Rübenkrankheiten während des Jahres 1900. (Ztschr. d. Ver. d. dtsh. Zuckerindustrie. 1901. Lfg. 543. p. 323—330.)
- Howard, L. O.**, The principal insects affecting the tobacco plant. (U. S. Departm. Agric. Farmers Bullet. No. 120.) 8°. 32 p. Washington 1900.
- Hruschka, J. u. Karásek, A.**, Myrica rubra, Gärt. (Obstgarten. 1901. No. 1. p. 4—5.)
- Hunger, F. W. T.**, Overzicht der ziekten en beschadigingen van hed blad bij Deli-Tabak. (Mededeel. nit's lands plantentuin. XLVII.) III, 53 p. Batavia (G. Kolff & Co.) 1901.
- Jürgens, E.**, Ueber die Schütte der Kiefern sämlinge und deren Verhütung. (Ztschr. f. Forst- u. Jagdwesen. 1901. Heft 6. p. 366—368.)
- Kieffer, J. J. et Trotter, A.**, Description d'une oécidomyie nouvelle de Chine (Rhopalomyia Giraldii n. sp.). (Bullet. de la soc. entomol. de France. 1900. No. 11. p. 233—234.)
- Klipp, G.**, La maladie de la pomme de terre. (Journ. de la soc. agric. du Brabant-Hainaut. 1900. p. 935—936.)
- Kusano, S.**, Phytophthora infestans found in Japan. (Botan. magaz. Tokyo. 1901. No. 167. p. 1—3.) [Japanisch.]
- Lambillon, L. J.**, Maladie des chênes causée par un champignon (Rhizoctonia violacea Tul.) et un kermès (Chermès variegatus Latr.). Rapport sur un cas qui se présente dans les bois de Goyet. (Bullet. de l'agricult. Bruxelles. 1901. T. XVII. Livr. 1. p. 33—41.)
- Marchal, E.**, Recherches biologiques sur une Chytridinée parasite du lin. (Bullet. de l'Agricult. Bruxelles. 1900. T. XVI. Livr. 6. p. 511—554.)
- Moniliakrankheit unserer Obstbäume. (Obstgarten. 1901. No. 2, 5. p. 18—19, 65—69.)
- Montemartini, L.**, La Monilia fructigena Pers. e la malattia dei frutti da essa prodotta. Rassegna sintetica. (Riv. di patol. vegetale 1899/1900. Vol. VIII. No. 7/12. p. 210—218.)
- Neger**, Ueber Verbreitung der Pilzsporen durch den Wind. (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1901. Heft 2. p. 13—14.)
- Oberlin**, Die Bekämpfung des Traubenwurmes. (Weinbau u. Weinhandel. 1901. No. 21. p. 234.)

- Paddock, W.**, The New York apple-tree canker. (New York agricult. experim. stat. Geneva 1900. *Bullet.* No. 85. p. 205—213.)
- Ritzema Bos, J.**, Het „vuur“ der narcissen. (Tijdschr. over plantenziekt. 1. aflev. 1901. p. 12—24.)
- Sanderson, E. D.**, Some plant-lice affecting peas, clover and lettuce. (Canad. entomologist. 1901. No. 2, 3. p. 31—39.)
- Schoenichen, W.**, Die Schutzmittel der Pflanzen gegen Raupenfraß. (Prometheus. 1901. Heft 7. p. 437—438.)
- Smith, J. B.**, The apple plant louse (*Aphis mali*). (New Jersey experim. stat. bullet. 1900. No. 143. 23 p.)
- Sorauer, P.**, Die Aelchenkrankheit bei *Chrysanthemum indicum*. (Gartenflora. 1901. Heft 2. p. 35—36.)
- Staes, G.**, De krulziekte van den perzik (*Exoascus deformans*). (Tijdschr. over plantenziekten. 1900. Aflev. 5/6. p. 183—191.)
- Verhoeff, C. W.**, Ein beachtenswerter Feind der Blattlaus (*Chrysopa vulgaris*). (Berl. entomol. Ztschr. Bd. XLV. 1900. Heft 3/4. p. 180—182.)
- Webster, F. M.**, The San José scale problem as compared with the Orange scale problem. (Science. N. S. Vol. XIII. 1901. No. 326. p. 510.)
- Zirngiebl, H.**, Spargelschädlinge. (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1901. Heft 2. p. 11—13.)

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

- Schuch, J.**, Ueber Peronospora- und Oidiummittel. (Weinlaube. 1901. No. 18. p. 205—206.)
- Townsend, C. O.**, The effect of hydrocyanic acid gas upon grains and other seeds. (Botan. Gaz. 1901. No. 4. p. 241—264.)

Inhalt.

Originalmittheilungen.

- Gotthell, O.**, Botanische Beschreibung einiger Bodenbakterien. (Orig.) [Forts.], p. 680.
- Loew, Oscar.**, Nochmals über die Tabakfermentation. (Orig.), p. 673.

Referate.

- Escherich, K.**, Ueber das regelmäßige Vorkommen von Sproßpilzen in dem Darmepithel eines Käfers, p. 700.
- Fischer, Ed.**, Fortsetzung der entwicklungsgeschichtlichen Untersuchungen über Rostpilze, p. 693.
- Iwanoff, K. S.**, Die im Sommer 1898 bei Petersburg beobachteten Krankheiten, p. 692.

- Jacky, Ernst**, Der Chrysanthemum-Rost, p. 698.
- Klebahn, H.**, Kulturversuche mit Rostpilzen. IX., p. 693.
- —, Beiträge zur Kenntniss der Getreideroste. II., p. 696.
- Matsdorff**, Kersschädigungen in Kanada während 1898, p. 699.
- Rick, J.**, Eine neue Sclerotinia-Art, p. 699.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

- Pfuhl, A.**, Ueber das Schumburg'sche Verfahren zur Wasserreinigung, p. 701.

Neue Litteratur, p. 702.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Prof. Dr. J. Behrens in Weinsberg i. W.,
Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Dr. v. Freudenreich in Bern, Privatdocent
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Dr. G. Harris Morris
in London, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädenswil, Dr. Erwin F. Smith in
Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr.,
Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel
und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Berlin

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von **Gustav Fischer in Jena.**

VII. Band.

Jena, den 27. September 1901.

No. 20.

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnnummer 1 Mark 50 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilagen die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Sterilisierung von Milch durch Wasserstoffsperoxyd.

[Aus dem hygienischen Universitätsinstitute in Wien.]

Von **Harriette Chick, B.Sc.**

Vorübergehende Erhitzung ist ein vortreffliches Mittel, Milch zu sterilisieren, und wird daher mit Recht in ausgedehntem Maße angewendet. Trotzdem hat dieses Verfahren gewisse Mängel. Es ist etwas umständlich und kostspielig und nicht immer und über-

all anwendbar. Wendet man niedere Temperaturen an (ca. 70° C) oder erhitzt man nur durch kurze Zeit, wie beim sogenannten Pasteurisieren, so behält zwar die Milch ihren vollen Geschmacks-wert, wird aber nicht gründlich genug von Keimen befreit, so daß sie nur für kurze Zeit haltbar bleibt und namentlich bei höherer Temperatur rasch und in gefährlicher Weise (Bitterwerden) verdirbt. Erhitzt man aber so hoch und so lange, daß wirklich Sterilisation oder wenigstens vollkommene Haltbarkeit erreicht wird, so verliert die Milch ihren Wohlgeschmack und büßt an Verdaulichkeit ein, welcher letztere Umstand insbesondere bei der künstlichen Ernährung der Säuglinge Berücksichtigung verdient.

Ein ausgezeichnetes anderes Mittel zur Konservierung der Milch ist dauernde Kalthaltung. In der neuen Form des Verfahrens der Eismilcherzeugung wird es ohne Zweifel bald von größtem Nutzen bei der Milchversorgung der großen Städte werden. Aber auch dieses Verfahren ist, im Kleinen angewendet, umständlich, unbequem und kostspielig. Es leistet auch nicht Alles, um die Gesundheitsgefahren durch Milchgenuß auszuschließen, da Krankheitskeime in der Milch durch Abkühlung und selbst durch Einfrieren nicht sicher getötet werden.

Es ist daher begreiflich, daß man nach anderen Konservierungsmitteln gesucht hat. Es ist auch bekanntlich gelungen, zahlreiche chemische Verbindungen zu finden, welche Milch vor Zersetzung bewahren und selbst sterilisieren. Leider sind aber die bisher in dieser Richtung erprobten Stoffe nicht anwendbar, weil sie Aussehen und Geschmack der Milch beeinflussen, ihre Zusammensetzung verändern und für den menschlichen Körper mehr oder weniger schädlich sind.

Prof. W. Ramsay vom University College in London machte mich nun darauf aufmerksam, daß das Wasserstoffsuper-oxyd verdienen würde, eingehender als es bisher anscheinend geschehen ist, auf seine Brauchbarkeit als Milchkonservierungsmittel geprüft zu werden.

Es liegen in dieser Hinsicht allerdings Experimente von Heidenhain¹⁾ und Schroot²⁾ vor, aber diese geben keinen genügenden Aufschluß. Von vornherein scheint vieles zu Gunsten des Hyperoxyds zu sprechen. Es hat eine sehr energische Desinfektionswirkung. P. S. van Hellingen-Tromp³⁾ gab an, daß es imstande sei, in Verdünnungen von 1 : 5000 bis 1 : 50000 verunreinigtes Wasser binnen 24 Stunden vollständig zu sterilisieren. Althoefer⁴⁾ konnte eine so intensive Wirkung zwar nicht bestätigen, fand aber immerhin, daß das Hyperoxyd in der Verdünnung 1 : 1000 für die vollständige Sterilisation verunreinigten Wassers wie für die Abtötung von Reinkulturen des Typhusbacillus, des Milzbrandbacillus und des Choleravibrio genügt. Es ist bekannt, daß auch die energische baktericide Wirkung des Sonnen-

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. VIII. p. 488 u. 696.

2) Chem. Centralbl. 1884. p. 67.

3) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. III. p. 800.

4) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. VIII. p. 129.

lichtes auf der Bildung von Wasserstoffhyperoxyd beruht [Richardson¹⁾, Dieudonné²⁾].

Während somit geringe Mengen des Hyperoxyds auf die Mikroben sehr schädlich wirken, scheinen sie für den Menschen bei innerlichem Gebrauche ganz unschädlich zu sein. So konnte Althoefer³⁾ Wasser mit 1 Proz. Wasserstoffhyperoxyd trinken, ohne die geringste üble Wirkung davon zu spüren. Schon früher hatten Guttman⁴⁾ und Schwerin⁵⁾ Versuche an Tieren angestellt, die Aehnliches ergaben. Bei direkter Injektion in die Blutbahn gehen allerdings viele Tiere daran zu Grunde, daß der bei der Zersetzung des Hyperoxydes in Form von kleinen Gasbläschen frei werdende Sauerstoff die Blutgefäße verstopft. Vom Magen aus wurden aber verhältnismäßig sehr große Dosen ohne jeden Schaden vertragen. So überstand ein Hund Schwerin's sogar 40 ccm einer 10-proz. Lösung, wenn auch unter schweren Krankheitserscheinungen.

Uebrigens konnte man auch hoffen, daß das Hyperoxyd als eine leicht zersetzliche Verbindung neben den organischen Substanzen in der Milch nicht lange bestehen bleiben, sondern, nachdem es seine Desinfektionswirkung geübt hat, bald zu Wasser reduziert werden würde. Es schien daher in der That der Mühe wert, die Sache genauer zu prüfen.

Meine Untersuchung ging darauf aus, endgiltig festzustellen, ob bescheidene Mengen von Hyperoxyd, der Milch beigemischt, sie steril machen und ob die zur Sterilisation erforderliche Menge die Zuträglichkeit oder den Geschmack der Milch schädige. Einige Experimente beschäftigten sich auch mit der Frage, in welcher Weise Milch und Hyperoxyd aufeinander einwirken.

Das Wasserstoffhyperoxyd wurde der Milch in Form einer titrierten wässerigen Lösung beigemischt. Ich benutzte eine Lösung von etwa 3 Proz. Stärke. Da dieselbe schwach sauer reagierte, wurde sie jedesmal vor dem Gebrauche mit Hilfe einer Lösung von Natriumbikarbonat genau neutralisiert und bis zur völligen Klarheit filtriert. Die neutralisierte Lösung ist sehr unbeständig. Um daher die Menge von Hyperoxyd, welche der Milch zugefügt wurde, ganz genau festzustellen, wurde aus der Burette, mit Hilfe deren man die filtrierte neutralisierte Lösung der Milch hinzufügte, jedesmal unmittelbar vor und nach dem Zusatze des Wasserstoffperoxydes zur Milch eine kleine Menge (1 ccm) abgemessen und mit $\frac{1}{10}$ n-Lösung von Kaliumpermanganat titriert. Da das Volumen der Milch ebenso wie das der Hyperoxydlösung jedesmal gemessen wurde, konnte man genau berechnen, wie viel Hyperoxyd der Milch hinzugefügt worden war. Bei allen späteren Experimenten wurde die Mischung von Milch und Hyperoxydlösung sofort auf eine Anzahl kleiner, reiner, aber nicht vorher sterilisierter Fläschchen ganz

1) Journ. Chem. Soc. 1893.

2) Arbeiten a. d. kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. IX. 1894. p. 537.

3) L. c.

4) Virchow's Archiv. Bd. LXXIII. 1878. p. 23.

5) Virchow's Archiv. Bd. LXXIII. 1878. p. 37.

gleichmäßig verteilt. Um den Verlauf der Einwirkung verfolgen zu können, wurde von Zeit zu Zeit ein solches Fläschchen zur chemischen und bakteriologischen Untersuchung genommen.

Die Bestimmung der Menge von Hyperoxyd, welche in einem bestimmten Augenblicke in der Milch vorhanden ist, konnte natürlich nicht mit Kaliumpermanganat geschehen. Ich bestimmte sie aus der Menge Jod, welche aus einer Lösung von Jodkalium in Freiheit gesetzt wurde. Gewöhnliche Milch vermag eine gewisse Menge Jod zu binden; in der Milch selbst wäre daher die Bestimmung nicht ausführbar gewesen. Wenn man aber die Milch koaguliert, so findet man, daß das Serum Jod nicht bindet. Es wurde daher folgendermaßen vorgegangen: Eine gewisse Menge Milch (z. B. 50 ccm) wurde mit der Pipette abgemessen, eine gemessene Menge (gewöhnlich 1 ccm) einer 5-proz. Lösung von Schwefelsäure hinzugefügt und das Ganze bis zur Vollendung der Koagulation hingestellt. Hierauf wurde durch Papier filtriert und von dem Filtrate eine gemessene Menge (5–10 ccm) zur Analyse genommen. Diese Menge wurde mit 40–50 ccm destilliertem Wasser und 0,5 g Jodkalium und soviel Schwefelsäure, daß die Konzentration der Säure 2 Proz. betrug, in eine gut schließende Stopfenflasche gebracht, das Gemisch 4 Stunden im Dunkeln stehen gelassen und dann das frei gewordene Jod mit Hilfe von Natriumthiosulfat titriert. Da die bloße Berührung von Schwefelsäure und Jodkalium durch so lange Zeit etwas Jod in Freiheit setzen kann, besonders dann, wenn die Konzentration der Schwefelsäure 2 Proz. erheblich überschreitet, so thut man gut, jedesmal einen blinden Versuch zu machen und die dabei gefundene Jodmenge von der thatsächlich gefundenen Gesamtmenge abzuziehen. Diese Korrektur ist aber gewöhnlich ganz unbedeutend.

Es wurden noch andere Konzentrationen der Schwefelsäure als die angegebene, ferner der Ersatz der Schwefelsäure durch andere Säuren, die Erwärmung der Mischung und verschiedene Zeitlängen der Einwirkung versucht. Es zeigte sich aber, daß dabei die Methode weniger verlässlich wird.

Die folgende Tabelle enthält die Ergebnisse der Bestimmung des Wasserstoffhyperoxydes unmittelbar nach dem Zusatze desselben zu Milch und Wasser und zeigt, daß die Methode der Analyse verlässlich ist; nebenbei auch, daß das Hyperoxyd durch die Milch nicht sofort zersetzt wird.

Wasserstoffsuperoxyd	Versuchsreihe		
	I	II	III
	Proz.	Proz.	Proz.
berechnet aus der Titrierung der zugesetzten Lösung	0,088	0,0121	0,0121
gefunden im Wasser mit Hilfe der Kaliumpermanganatmethode	0,093	0,0124	0,0124
gefunden im Wasser mit Hilfe der Jodmethode	—	—	0,0121
gefunden in der Milch mit Hilfe der Jodmethode	0,085	0,0121	0,0116

Die bakteriologische Prüfung wurde in der Weise ausgeführt, daß mit je 1 ccm der Milch selbst Gelatineplatten, gelegentlich auch Agarplatten, gegossen wurden. Außerdem wurde je 1 ccm Milch zu 10 ccm steriler Bouillon hinzugefügt und die Mischung 2—3 Tage lang bei 37° aufbewahrt. Einige Male wurden auch die Milchproben selbst in den Brüttschrank gestellt. Wenn die Originalgelatineplatten steril blieben, wurden aus den Bouillonröhrchen ebenfalls Plattenkulturen angelegt. Blieben auch diese frei von allen Kolonien, so wurde die betreffende Milchprobe als steril erklärt.

Es wurden im ganzen 6 Versuchsreihen bezüglich der zur Sterilisierung oder Konservierung der Milch erforderlichen Menge von Wasserstoffsperoxyd angestellt, deren Einzelheiten aus den beigeschlossenen Tabellen entnommen werden können.

Es zeigte sich, daß zur vollständigen Sterilisierung der Milch ein Zusatz von 2 ‰ H_2O_2 erforderlich ist. Der Zusatz von 1 ‰ H_2O_2 genügt, um die Milch für eine Woche und noch länger ungeronnen und süß zu erhalten, reicht aber nicht hin, um sie zu sterilisieren oder das Bakterienwachstum in ihr vollständig zu hemmen. — Noch stärkere Verdünnungen des Wasserstoffsperoxydes haben selbstverständlich entsprechend schwächere Wirkung und verzögern die Konservierung nur um 1 bis 3 oder 4 Tage.

Für diesen Effekt scheint es ziemlich gleichgiltig zu sein, ob die Milch frisch gemolken mit Wasserstoffsperoxyd versetzt wird oder ob in der gemolkenen Milch Bakterienvermehrung eintreten konnte, bevor das Desinficiens zugesetzt wurde (vergl. Versuchsreihen 1 mit 3 und 4). Dagegen scheint für abgerahmte Milch ein erheblich geringerer Zusatz von Hyperoxyd zu genügen. Wenigstens wurde die abgerahmte Milch im Versuche 2 schon durch 1 ‰ H_2O_2 sterilisiert und durch 0,5 ‰ H_2O_2 4 Tage lang konserviert.

Es war nach allen Erfahrungen über Desinfektion von vornherein zu erwarten gewesen, daß zur Sterilisierung der Milch größere Mengen von Wasserstoffsperoxyd erforderlich sein werden als zu der von Wasser. Immerhin sind die notwendigen Mengen noch klein genug.

Recht unerfreulich waren dagegen die Erfahrungen bezüglich der Veränderungen des Geschmackes der Milch. Die angewendeten relativ kleinen Mengen Wasserstoffsperoxyd verändern zwar nicht die Schmeck- und Riechstoffe der Milch selbst — sobald das Wasserstoffsperoxyd aus der Milch verschwunden ist, zeigt sie völlig normalen Geschmack und Geruch — aber die Anwesenheit winzig kleiner Mengen von Wasserstoffsperoxyd in der Milch ist der Zunge recht unangenehm an einem eigentümlichen (säuerlichen, bitterlichen oder prickelnden?) Beigeschmack kenntlich. Wie die Schmeckproben im Vergleiche mit den Titrierungen ergeben haben, ist noch 1 Teil H_2O_2 in 10000 Teilen Milch deutlich schmeckbar.

Diese Thatsache ist für die Verwendung des Wasserstoffsperoxydes als Milchkonservierungsmittel um so fataler, als in jenen Mischungen, welche durch das Mittel sterilisiert worden sind

oder in welchen wenigstens eine ausgiebige Hemmung des Bakterienwachstums erreicht worden ist, das Wasserstoffsperoxyd lange bestehen bleibt. So konnte bei der 2. Versuchsreihe in der sterilen Mischung 1 : 500 das Wasserstoffsperoxyd noch nach 34 Tagen nachgewiesen werden. Die Titrierungen gelegentlich der 4. Versuchsreihe haben die interessante Thatsache ergeben, daß zwar unmittelbar oder innerhalb der ersten 24 Stunden nach dem Zusatze eine nicht unerhebliche Menge Wasserstoffsperoxyd zerstört wird, daß aber späterhin entweder gar keine oder nur eine höchst unbedeutende Verminderung seiner Menge eintritt. So blieb in der Verdünnung 1 : 500 der Titer 0,12 Proz. durch 7 Tage, in der Verdünnung 1 : 1000 der Titer 0,014 Proz. durch 5 Tage unverändert. Ganz ähnliche Resultate gab die 5. Versuchsreihe. In der Verdünnung 1 : 500 ging der Gehalt an H_2O_2 in den ersten 24 Stunden von 0,21 Proz. auf 0,09 Proz. zurück, sank aber dann in weiteren 13 Tagen nur auf 0,088 Proz. In der Verdünnung 1 : 1000 nahm die Konzentration am 1. Tage von 0,102 Proz. auf 0,01 Proz. ab, in den folgenden 2 Tagen trotz einer gewissen Bakterienvermehrung aber nur auf 0,008 Proz.

Die 5. und 6. Versuchsreihe lehren, daß in vorher sterilisierter Milch auch die anfängliche Zerstörung des Wasserstoffsperoxydes nahezu vollständig ausbleibt. In dem Gemische der sterilisierten Milch mit 0,21 Proz. H_2O_2 war am folgenden Tage noch 0,18 Proz. nachweisbar und sogar in der Verdünnung 1 : 2000 nach 24 Stunden statt 0,05 noch 0,04 Proz. (5. Versuch).

Die Zerlegung des Wasserstoffsperoxydes in der frischen Milch muß somit durch Dinge herbeigeführt werden, die bei der Erhitzung zerstört werden. Es konnten dies die Mikrobenkeime sein oder Enzyme, die der frischen Milch selbst angehören, oder es konnte beides im Spiele sein. Die 6. Versuchsreihe macht es wahrscheinlich, daß es sich lediglich um Bakterienwirkung handelt. Jedenfalls genügt die Lebensthätigkeit der Bakterien für sich allein vollständig, um die in der frischen Milch beobachtete Zersetzung des Wasserstoffsperoxydes zu erklären. Der Versuch wurde so ausgeführt, daß eine Portion Milch zunächst eine Stunde lang im Dampftöpfe gekocht wurde. Dadurch wurden jedenfalls die Enzyme in ihr zerstört. Nach dem Erkalten wurde die eine Hälfte der Milch mit einer geringen Menge unsterilisierter Milch infiziert (5 auf 750 ccm), während die andere Hälfte uninfiziert stehen blieb. Am nächsten Tage wurden von beiden Hälften Gemische mit Wasserstoffsperoxyd hergestellt und nun das Verhalten des Spermooxydes kontrolliert. Wie ein Blick auf die Tabelle zeigt, wurde von der von Milchenzymen freien, infizierten Milch gerade so energisch H_2O_2 zerlegt, wie bei den früheren Versuchen von den frischen Milchen.

Die Eigenschaft der Bakterien, Wasserstoffhyperoxyd zu zerlegen, ist übrigens schon von B é c h a m p¹⁾ angegeben worden und Richardson²⁾ hat die gegenseitige Zerstörung der Bakterien

1) Compt. rend. T. XCIV. 1882. p. 1653 u. 1720.

2) l. c.

und des Wasserstoffsperoxydes, geradeso wie ich sie bei der Milchsterilisation angetroffen habe, gelegentlich seiner Untersuchungen über die bakterientötende Wirkung des Sonnenlichtes ausführlich besprochen. Gottstein¹⁾ glaubte die Zerstörung des H_2O_2 als eine rein chemische Wirkung des Bakteriennukleins erklären zu können.

Es hat aber fast den Anschein, als ob nicht alle Bakterienarten das Wasserstoffsperoxyd zerstören würden und als ob das Wasserstoffsperoxyd für die Arten, die es nicht zerstören, unschädlich wäre. Anders dürfte kaum das auffallende Ergebnis in der 4. Versuchsreihe zu verstehen sein, wo in der Probe 1 : 1000 0,014 Proz. Wasserstoffsperoxyd durch 6 Tage unverändert bestehen blieb trotz reichlicher Bakterienvermehrung, während in der Probe 1 : 1500 0,07 Proz. H_2O_2 bereits binnen 24 Stunden vollkommen zersetzt waren.

Da die organischen Bestandteile der Milch und das Wasserstoffsperoxyd bei gewöhnlicher Temperatur miteinander nicht reagieren, der Ueberschuß des Wasserstoffsperoxydes bestehen bleibt, sobald die Bakterien ihren Tod gefunden haben und dadurch der Gebrauchswert der Milch erheblich vermindert wird, wurde noch der Versuch gemacht, ob nicht durch gelinde Erhöhung der Temperatur Reduktion und Zerstörung des Wasserstoffsperoxydes herbeigeführt werden könnte. Wenn dies möglich wäre, würde die Sterilisation mit Wasserstoffsperoxyd, welche die chemische Beschaffenheit der Milchnährstoffe völlig unberührt läßt, erheblichen praktischen Wert besitzen. Eine Portion Milch wurde mit 2 Prom. Superoxyd versetzt und dadurch sterilisiert. Nach 24 Stunden betrug die Konzentration des H_2O_2 noch 0,08 Proz. Um entscheidende Resultate zu erhalten, wurde die Milch sogleich ziemlich stark, nämlich $\frac{1}{2}$ Stunde lang auf 55–60° C, erhitzt. Das Ergebnis war sehr überraschend. Nach dem $\frac{1}{2}$ -ständigen Erhitzen enthielt die Milch noch 0,078 Proz. H_2O_2 , und eine weitere halbe Stunde Erhitzen veränderte ihren Wasserstoffsperoxydgehalt nicht im geringsten! Die Milch wurde auch bei reduziertem Druck zum Kochen gebracht, aber das Resultat war genau dasselbe (Versuchsreihe 7).

Die Stabilität des Peroxydes in der Milch war äußerst überraschend. Da wir bemerkt hatten, daß in der ursprünglichen Lösung des Peroxydes im Wasser nach der Neutralisation die Zersetzung rascher als vorher vor sich ging, wurde versucht, die Milch alkalisch zu machen. Es wurde 0,1 Proz. Natriumbikarbonat hinzugefügt, aber das Peroxyd verblieb in der Milch in derselben Menge (s. Versuchsreihe 8).

Nachdem dieser Versuch negativ ausgefallen war, schien es möglich, daß sich das Peroxyd mit irgend welchen Bestandteilen der Milch, wie z. B. dem Calcium, umsetze und dabei eine stabilere Verbindung bilde, welche sich beim Erwärmen nicht zersetzt. Es schien wahrscheinlich, daß eine solche Verbindung durch Säure

1) Virchow's Arch. Bd. CXXXIII. 1893. p. 295.

zersetzt werden würde. Es wurde daher eine gewisse Menge Milch angesäuert. Um das Gerinnen derselben zu vermeiden, wurde, da die Milch bereits sauer reagierte, nur 0,02 Proz. Schwefelsäure hinzugefügt. Zu dieser Milch wurde Wasserstoffperoxyd hinzugegeben. Es verhielt sich aber auch in dieser angesäuerten Milch bei gewöhnlicher wie bei erhöhter Temperatur ganz ebenso wie in der neutralen und alkalischen (s. Experimente I und II, Versuchsreihe 9). Auch war es interessant, zu bemerken, daß, gleichgiltig wieviel Peroxyd der Milch hinzugefügt wurde, die Menge des zersetzten Peroxydes konstant blieb (Experiment I, Versuchsreihe 9 und Versuchsreihe 10).

Dieser verhältnismäßig permanente Rest von Peroxyd, welcher zurückbleibt, nachdem die bakteriologische Zersetzung vollendet ist, kann leicht zerlegt werden, wenn man neuerdings Bakterien hinzufügt. Dieses wurde auf folgende Weise bewiesen: eine gewisse Menge Milch wurde sterilisiert und Wasserstoffsperoxyd in der Menge von 0,2 Proz. hinzugefügt, also eine größere Menge, als durch die Bakterien der Milch voraussichtlich zersetzt werden konnte. Am nächsten Tage wurde die noch immer Peroxyd enthaltende Milch mit gewöhnlicher unsterilierter Milch 4fach verdünnt. Eine sofortige Bestimmung des Peroxydes zeigte, daß seine Konzentration dadurch zunächst auf ein Viertel reduziert war; aber am nächsten Tage konnte keine Spur von Peroxyd mehr entdeckt werden (Versuchsreihe 11).

Alle unsere Versuche über die Haltbarkeit des Peroxydes in der Milch waren in der Meinung angestellt, daß sich das Peroxyd in Milch gänzlich anders verhalte als in Wasser. Es stellte sich aber schließlich bei Kontrollversuchen heraus, daß auch wässrige Lösungen des Peroxydes von gleicher Konzentration sehr haltbar sind, wenn auch nicht so gut wie die Lösungen in Milch (Versuchsreihe 12).

Man wird daher zu dem Schlusse geführt, daß es hauptsächlich auf die Konzentration des Peroxydes ankommt und daß Wasserstoffsperoxyd in hochgradig verdünnten Lösungen viel beständiger ist, als man gewöhnlich annimmt. Es wird aber durch lebende Bakterien auch in diesen hochgradigen Verdünnungen sehr schnell und kräftig zersetzt.

Das Ergebnis unserer Versuche ist in Bezug auf Konservierung von Trinkmilch ungünstig. Kleine Mengen von Wasserstoffsperoxyd, die kurze Zeit nach dem Zusatze zur Milch zerstört werden, sterilisieren die Milch nicht und konservieren sie auch nicht in einer für die Praxis ausreichenden Weise. Jene größeren Mengen aber, die für die Konservierung ausreichen, verderben den Geschmack der Milch.

Dagegen möchte ich darauf hinweisen, daß das Wasserstoffperoxyd sehr brauchbar wäre zur Konservierung von Milchproben für analytische Zwecke. Dafür ist es deshalb besonders geeignet, weil es, wie die vorliegenden Untersuchungen gezeigt haben, die chemische Zusammensetzung der Milch nicht im geringsten verändert. Allerdings bedingt der Zusatz der Hyperoxydlösung zu der Milch eine Verdünnung derselben. Diese kann aber leicht in

Rechnung gestellt werden und brauchte nicht groß zu sein, da heute 10-proz. Lösungen von H_2O_2 in den Handel kommen. Auf den Liter Milch brauchte man nur 20 ccm einer solchen Lösung zuzusetzen, um auf unbestimmte Zeit zu konservieren.

1. Versuchsreihe. Gewöhnliche Milch aus einem Laden.

Konzentration des H_2O_2 , am 14. November	1 : 500		1 : 1000		1 : 5000 (1,03 : 5000)		1 : 10 000 (0,86 : 10 000)		Kontrolle	
	Zustand der Milch	Keim- gehalt	Zustand der Milch	Keimgeh.	Zustand der Milch	Keimgeh.	Zustand der Milch	Keimgeh.	Zustand der Milch	Keim- gehalt
14. Novbr. nach 2—4 Stunden	süß	wenige Keime im ccm	süß	+	süß	+	süß	+	süß	++
15. November	"	—	"	—	süß geronn.	+	süß geronn.	+	sauer geronn.	++
16. "	"	—	"	+						
17. "	"	—	"	+						
18. "	"	—	"	+						
19. "	"	—	"	+						
20. "	"	—	"	+						
21. "	"	—	"	+						
22. "	"	—	"	+						
23. "	süß*	—	sauer geronn.							

— bedeutet keimfrei.

+ bedeutet Kolonien, zu zahlreich, um sie bequem zu zählen.

++ bedeutet unzählige Kolonien.

* bedeutet Geschmack nach Wasserstoffperoxyd.

2. Versuchsreihe. Milch wurde 24 Stunden lang an einem kühlen Orte zum Aufrahmen stehen gelassen; dann wurde die blaue Milch mit Vermeidung des Rahmes abgehebert und zum Versuche verwendet.

Konzentration des H_2O_2 , am 16. November	1 : 500 (0,88 : 500)		1 : 1000 (0,9 : 1000)		1 : 2000 (0,94 : 2000)		1 : 5000 (0,92 : 5000)		1 : 10 000 (0,93 : 10 000)		Kontrolle	
	Zustand der Milch	Keimgeh.	Zustand der Milch	Keim- gehalt	Zustand der Milch	Keim- gehalt	Zustand der Milch	Keim- gehalt	Zustand der Milch	Keim- gehalt	Zustand der Milch	Keim- gehalt
16. Novbr. nach 4 1/2 Stunden	süß	—	süß	129 im ccm	süß	+	süß	++	süß	++	süß	++
17. Novbr. nach 18—21 Stdn.	"	—	"	—	"	750 im ccm	"	++	"	++	sauer	++
18. November	"	—	"	—	"	+	sauer geronn.		geronn.		geronn.	
19. "	"	—	"	—	"	+						
20. "	"	—	"	—	"	+						
21. "	"	—	"	—	sauer	++						
22. "	"	—	"	—	"	+						
23. "	süß*	—	"	—	geronn.							
26. "	"	—	"	—	"							
29. "	"	—	"	—	"							
30. "	süß*	—	süß*	—	"							

Bedeutung der Zeichen wie früher.

3. Versuchsreihe. Die Milch wurde unmittelbar in ein Laboratoriumgefäß gemolken und sogleich verarbeitet.

Konzentration des H ₂ O ₂ am 4. Dez.	1:500 (0,96:500)		1:1000 (0,96:1000)		1:1500		1:2000		1:5000 (0,97:5000)		1:10 000 (0,99:10 000)		Kontrolle	
	Zustand der Milch	Keimgeh.	Zustand der Milch	Keimgehalt	Zustand der Milch	Keimgehalt	Zustand der Milch	Keimgehalt	Zustand der Milch	Keimgehalt	Zustand der Milch	Keimgeh.		Zustand der Milch
4. Dez. n. 6 Stdn.	süß*	—	süß θ	51 im ccm	süß	268 im ccm	süß	508 im ccm	süß	+	süß	+	süß	—
5. Dez.	"	—	"	fast steril	süß θ	+	süß θ	+	süß θ	+	süß θ	+	süß θ	süß
6. "	"	—	"	434 im ccm		++		++		++	sauer		sauer	
7. "	"	—	süß θ H ₂ O ₂ nachweisbar		süß		geronn.		geronn.					
8. "	süß* 0,09 % H ₂ O ₂	—	süß	++	geronn.									
11. "	süß* 0,05 % H ₂ O ₂	—	süß θ Spur H ₂ O ₂ nachweisbar	++										
20. "	süß*	—	sauer keine Spur von H ₂ O ₂											

Bezeichnungen wie früher. θ kein Geschmack nach H₂O₂.

4. Versuchsreihe. Die Milch wurde wieder unmittelbar nach dem Melken verarbeitet. Wo der folgenden Tabelle keine Gegenbemerkung sich findet, wurde die Milch ungeronnen und süß gefunden.

Konzentration d. H ₂ O ₂ am 13. Dez.	1:500		1:1000		1:1500 (1,02:1500)		1:2000 (1,02:1500)		1:5000 (0,99:5000)		1:10 000 (1,07:10 000)		Kontrolle	
	%-Gehalt an H ₂ O ₂	Keimgehalt	%-Gehalt an H ₂ O ₂	Keimgehalt	%-Gehalt an H ₂ O ₂	Keimgehalt	%-Gehalt an H ₂ O ₂	Keimgehalt	%-Gehalt an H ₂ O ₂	Keimgehalt	%-Gehalt an H ₂ O ₂	Keimgehalt	%-Gehalt an H ₂ O ₂	Keimgehalt
13. Dez.	0,2	—	0,1	—	0,07	—	0,05	—	0,02	—	0,01	—	θ	—
13. Dez. n. 5 Stunden		11 im ccm		112 im ccm		+		+		+		+		θ
14. Dez.	0,12*	—	0,02*	+	θ	+	θ	+	θ	+	θ	++	θ	+
15. "	0,11*	—	0,014*	+		++		++		++		sauer		geronn.
17. "	0,12*	—	0,013*	+		++		sauer		geronn.		geronn.		
20. "														
21. "	0,12*	—	0,014* ¹⁾	+		geronn.								

1) Auffallenderweise nahm in dieser Probe der Gehalt an Wasserstoffsperoxyd nicht ab, trotzdem sich in derselben Bakterien vermehrten.

5. Versuchsreihe. Die Hälfte der für diesen Versuch bestimmten Milch wurde 1 1/2 Stunden lang im Dampftopfe gekocht, um festzustellen, ob sich sterilisierte und nicht sterilisierte Milch gegen Wasserstoffsperoxyd verschieden verhalten.

Nummer d. Probe	28. Febr. bei Beginn d. Versuches		1. März		2. März		4. März		6. März		7. März		13. März	
	%-Gehalt an H ₂ O ₂	Keimgehalt	%-Gehalt an H ₂ O ₂	Keimgehalt	%-Gehalt an H ₂ O ₂	Keimgehalt	%-Gehalt an H ₂ O ₂	Keimgehalt	%-Gehalt an H ₂ O ₂	Keimgehalt	%-Gehalt an H ₂ O ₂	Keimgehalt	%-Gehalt an H ₂ O ₂	Keimgehalt
Nicht sterilisiert														
32	0,21		0,09*	—	*	—	0,09*	—						
33	0,102		0,01*	+	*	688	0,008	+					0,088*	—
im ccm														
34	0,07		0,002 \emptyset	++	Spur \emptyset	+		++			geronn.			
35	0,051		winzige Spur \emptyset	++	Spur \emptyset	+			geronn.		geronn.			
36	Kontrolle	52 000	\emptyset	++		sauer		geronn.						
Gekocht														
37	0,21		0,18*	—		0,18*	—							
38	0,102		0,08*	—		0,07*	—							
39	0,05		0,04*	—			—							
40	Kontrolle	8		150			39 800							

6. Versuchsreihe. Die ganze Milch wurde eine Stunde lang im Dampftopfe gekocht. Nach dem Erkalten wurde die Hälfte mit einer kleinen Menge (5 ccm auf 750 ccm) unsterilisierte Milch infiziert, dann beide Hälften einen Tag lang sich selbst überlassen und endlich in gleicher Weise verarbeitet.

No. der Probe	14. März Beginn des Versuches		15. März		16. März		20. März	
	%-Gehalt an H ₂ O ₂	Keimgehalt	%-Gehalt an H ₂ O ₂	Keimgehalt	%-Gehalt an H ₂ O ₂	Keimgehalt	%-Gehalt an H ₂ O ₂	Keimgehalt
Infiziert								
44	0,18		0,035*	—	0,037*	—	0,029*	—
45	0,10		\emptyset	++	\emptyset	sauer		
46	0,05		\emptyset	++	\emptyset	sauer		
47	Kontrolle	++	\emptyset	sauer	\emptyset			
Nicht infiziert								
48	0,20		0,17*	—	0,17*	—	0,167*	—
49	0,10		0,08*	—	0,07*	—	0,07*	—
50	0,06		0,024*	—	0,027*	—	0,025*	—
51	Kontrolle	925	\emptyset	++	\emptyset	sauer		

7. Versuchsreihe. Das überschüssige Peroxyd wird beim Erhitzen nicht zerstört.

16. Mai.	Zu frischer Milch werden hinzugefügt	0,18 Proz. H ₂ O ₂
17. "	Die Milch ist vollkommen steril	0,08 " "
	Nach 1/2-stündigem Erhitzen auf 60°	0,078 " "
	" 1- " " 60°	0,078 " "
21. "	Die Milch ist noch steril	0,078 " "
	Nach Erhitzen auf 40° unter vermindertem Drucke	0,074 " "
22. "	Die Milch ist noch immer steril	0,078 " "
	Nach 1/2-stünd. Kochen bei 50° unt. vermind. Drucke	0,078 " "

8. Versuchsreihe. Peroxyd ist in alkalisierter Milch ebenso beständig wie in gewöhnlicher.

5. Juni.	Zu 1 l frischer Milch wurde zuerst 1 g Natriumbikarbonat zugefügt und dann	0,19 Proz. H_2O_2 ,
7. "	Die Milch ist steril und enthält	0,108 " "
	Nach 1-stündigem Erwärmen auf 60°	0,106 " "

9. Versuchsreihe. In angesäuertem Milch ist das von den Bakterien nicht zersetzte Peroxyd gerade so beständig wie in gewöhnlicher.

21. Juni. Zu frisch gemolkener, schwach sauer reagierender Milch wurde vorsichtig soviel verdünnte Schwefelsäure hinzugefügt, daß die Gesamtacidität 0,105 Proz. Schwefelsäurehydrat entsprach. Zur einen Hälfte der Milch wurden 0,615 Proz., zur anderen Hälfte 0,192 Proz. H_2O_2 zugesetzt.

		1. Portion		2. Portion
21. Juni.		0,615 Proz. H_2O_2 ,	0,192 Proz. H_2O_2 ,	
22. "		0,535 " " (steril)	0,099 " " (steril)	
22. "	Nach 1-stündigem Erhitzen auf 60°	0,524 " "	0,090 " "	

10. Versuchsreihe. Größere Mengen von Peroxyd beeinflussen nicht die Menge des anfänglich zersetzten und bleiben bei gewöhnlicher wie bei erhöhter Temperatur in der Milch bestehen.

21. Juni.	Gewöhnliche frische Milch wurde versetzt mit	0,625 Proz. H_2O_2 ,
	Nach 2 1/2 Stunden ist die Milch steril und enthält	0,547 " "
	Nach 1-stündigem Erhitzen auf 60°	0,522 " "

11. Versuchsreihe. Minimale Zersetzung und lange Beständigkeit von Peroxyd in sterilisierter Milch. Dieses in der Milch beständige Peroxyd wird durch Bakterien ebenso leicht zersetzt wie frisch zu gewöhnlicher Milch hinzugefügtes.

I. 5. Juni.	Zu sterilisierter Milch wurde hinzugefügt	0,19 Proz. H_2O_2
6. "	Milch steril und enthält	0,173 " "
7. "	" " " "	0,173 " "
17. "	" " " "	0,164 " "
17. "	Nach 1-stündigem Erhitzen auf 60°	0,169 " "

II. Am 6. Juni wurde ein Teil der 0,173 Proz. Peroxyd enthaltenden Milch mit frischer, nicht sterilisierter Milch aufs Vierfache verdünnt.

Nach der Berechnung sollte die verdünnten Milch enthalten 0,043 Proz. H_2O_2 ,

Sie enthielt thatsächlich unmittelbar nach der Herstellung 0,036 " "

7. Juni. Die verdünnte Milch ist unzersetzt, wenn auch nicht steril, und enthält 0,000 " "

III. Am 6. Juni wurden zu frischer, nicht sterilisierter Milch ebenfalls hinzugefügt 0,039 " "

7. Juni. Milch schwach sauer 0,000 " "

12. Versuchsreihe. Verhalten einer verdünnten Lösung von Wasserstoffsperoxyd in Wasser.

21. Juni.	Durch Verdünnen mit destilliertem Wasser wird eine Peroxydlösung mit 0,203 Proz. H_2O_2 hergestellt.	
	Nach 3 1/2 Stunden enthält die Lösung noch	0,191 Proz. H_2O_2 .
	Nach 1-stündigem Erhitzen auf 60°	0,178 " "
22. Juni.	Nach 24 Stunden in einer nicht erhitzten Portion	0,180 " "
3. Juli.	" 12 Tagen	0,130 " "

13. Versuchsreihe. Die Zersetzung des Peroxydes durch die Bakterien der Milch vollzieht sich innerhalb der ersten Stunde. Kontrolle mit sterilisierter Milch.

	I	II	III	
		unsterilisiert		
Unmittelbar nach dem Zusatze enthält die Milch	0,19 Proz.	0,19 Proz.	0,18 Proz.	H ₂ O ₂
15 Minuten später	0,17 "	0,12 "	—	
1 Stunde später	—	—	0,09 Proz.	H ₂ O ₂
Nach 1-stündigem Erhitzen auf 60°	—	—	0,09 "	" "

Nachdruck verboten.

Botanische Beschreibung einiger Bodenbakterien.

Beiträge zur Methode der Speciesbestimmung und Vorarbeit für die Entscheidung der Frage nach der Bedeutung der Bodenbakterien für die Landwirtschaft.

Von Dr. O. Gotthell.

Mit 4 Tafeln.

(Schluß.)

Interessant war das Vorkommen der echten Verzweigung bei diesem Bacillus. Ich setzte älteres Sporenmateriale auf Agar an und benutzte diesmal, um größere Mengen Sporenmateriale auftragen zu können, das Sporenmateriale von Agar, ohne daß ich dasselbe in Wasser abkochte. In dem so eben beschriebenen, aus langen, meist fast glykogenfreien, oder nur wenig glykogenhaltigen Zellfäden bestehenden Materiale fand ich zufälligerweise viermal vollkommene Verzweigungen, welche ich für echte Verzweigungen halte. In Fig. F c sehen wir z. B. einen Zellfaden, welcher ungefähr 50-lang und unseptiert war (Chlorzinkjod) und zwei lange, etwas dünnere Zweige ausgebildet hat. In Fig. F b sehen wir in dem Hauptzellfaden und dem einen Zweige mit Chlorzinkjod bereits deutliche Septierung. Ich war durch Herrn Prof. Meyer bei Ausführung dieser Arbeit darauf aufmerksam gemacht worden, daß eventuell echte Verzweigungen vorkommen könnten. Herr Prof. Meyer, welcher diese Beobachtung noch genauer verfolgen wird, hat auch bereits in seiner Arbeit 1897. p. 241 folgendes gesagt: „Es sind nur 2 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 u. s. w.“

Nach 12 Stunden, bei 28° sind meist 2-, 3- bis 12-stäbige Zellfäden vorhanden, deren Stäbe meistens dreilang sind; in einigen Zellfäden ist nach Durchfärbung mit Methylenblau keine oder eine nur schwache Septierung zu erkennen, so daß es häufig scheint, als wenn viele einstäbige 10-, 20- und mehrlange Zellfäden vorhanden

sind, oder auch mehrstäbige Zellfäden, deren Stäbe 2- bis 3-zellig sind und deren Zellen wieder 2- bis 3-lang erscheinen (Fig. F a), was jedoch nicht der Fall ist, denn nach Zusatz von Chlorzinkjod ist es erkennbar, daß meist 1- und mehrstäbige Zellfäden entwickelt sind, deren Stäbe vielzellig sind, wie z. B. Fig. H. Die Stäbchen waren unbeweglich, höchstens konnte man bei genauer Beobachtung vereinzelte Einzelstäbchen in langsamer Drehbewegung finden; es war aber kaum zu unterscheiden, ob Eigenbewegung oder Molekularbewegung vorlag. Erst nachdem ich diesen Bacillus ungefähr ein Jahr lang in Kultur hatte, konnte ich im Kondenswasser der Agarkolonien, welche sich 12 Stunden lang bei 28° oder 5—6 Stunden bei 28° und 14 Stunden bei Zimmertemperatur entwickelt hatten, normale, lebhaft Schwärmer finden. Nach 15—18 Stunden ist in den Stäbchen mit Jodlösung stets starke Glykogenbildung nachweisbar. Es sind Einzel-, Doppelstäbchen und bis 6- und seltener mehrstäbige Zellfäden vorhanden, deren Stäbe meist 2-lang sind (Fig. G, I a, b, c). Nach 40 Stunden findet man normale 1- bis 2-lange Einzel- und Doppelstäbchen (Fig. I d, K f, g), seltener mehrstäbige Zellfäden, deren Stäbe 1- bis 4-lang sind, und welche große Glykogenmengen gespeichert haben. Sporenbildung ist nach 40 Stunden noch nicht eingetreten. Nach 2—3 Tagen findet man meist 1- bis 2-lange Stäbchen, welche häufig relativ dünn, häufig auch etwas angeschwollen, oft etwas spiralförmig gekrümmt sind (Fig. K a, b, c, d, e, i). Nach 4 Tagen erkennt man in vielen Stäbchen körnchenartige Einschlüsse (Fig. K h), welche sich nach der Sudan-Methylenblau-methode nicht färbten, aber mit Jodlösung die Glykogenreaktion gaben. Nach 3—4 Tagen ist Sporenbildung eingetreten. Die Sporangien liegen einzeln, zu zweien, wie auch in bis 30-stäbigen Zellfäden mit aus einem Sporangium bestehenden Stäbchen; häufig findet man auch aus einlangen Sporangien bestehende, nicht stäbige Zellfäden (Fig. M a). Die Sporangien behalten vorherrschend die cylindrische Form bei (Fig. M b, c, d, e), seltener runden sie sich etwas ab wie Fig. M f, g, h. So schmale Sporangien, wie dieselben in Fig. M i dargestellt sind, kommen nur selten vor und sind als anormal zu betrachten. Die Sporangien mit fertig entwickelten Sporen, welche wir nach 6—7 Tagen bei 28° finden, haben normaler- und charakteristischerweise die Form wie Fig. M k, l. Die Sporen berühren mit ihren Längswänden die Sporangienmembranen; sie werden normalerweise mittel-, seltener endständig ausgebildet.

Die zur Ausführung der Geißelfärbung benutzte Kolonie ließ keine Schwärmer erkennen. In den nach Loeffler gefärbten Präparaten, welche mit Agarmaterial angefertigt wurden, das erst eine schwache Entwicklung zeigte, erkennt man Schwärmer mit peritricher, fast nur strahlig ausgebreiteter Begeißelung (Fig. N), deren Aussehen ich dem Starrezustande der Bakterien zuschreibe. Nur in wenigen Präparaten erscheinen die Geißeln etwas peitschenförmig gekrümmt.

Entwicklungsgang in Nährlösungen. Die Sporen keimen gut in Nährlösung II (Pepton Witte 0,5, Mannit 1,0,

Trockensubstanz der Bierwürze 1,5 zu 100 Wasser.) Nach Impfen und nach Abkochen der Nährlösung entwickelt sich nach 2 Tagen, bei 28° ein flockiger, leichter Bodensatz, welcher aus 20- und mehrstäbigen Zellfäden besteht, deren Stäbe meist 2- bis 4-lang sind. Die Zellfäden und die Stäbe zerfallen weiter, so daß nach 5 Tagen meist kurze, mehrstäbige Zellfäden, mit aus 1- bis 2-langen Stäbchen, resultieren. An der Oberfläche der Lösung kann sich am Rande des Reagenzglases, bei ruhigem Stehen der Lösung ein weißlicher Ring festsetzen, welcher aus langen, verschlungenen, vielstäbigen Zellfäden besteht. In diesen den Rand bildenden Zellfäden trat gut und schnell Sporenbildung ein, während in den Stäbchen, welche sich in der Nährlösung befinden, die Sporenbildung langsam und schlecht vor sich geht. Die Sporangien besitzen die vorher beschriebene Form. Eine 8 Wochen alte Lösung war schleimig und besaß einen dicken, schleimigen Bodensatz. Nach mehreren Wochen fand ich in dieser Nährlösung viele lebhaft schwärmende Stäbchen. In Nährlösung X keimten die Sporen niemals, und selbst wenn die Lösung mit Stäbchenmaterial geimpft wurde, fand keine Entwicklung statt. Nach einigen Monaten untersuchte ich das Wachstum in Nährlösung X nochmals und impfte sie mit einer 20-stündigen auf Agar gewachsenen Kolonie. Nach 3—5 Tagen fand man jetzt außer Einzel- und Doppelstäbchen (Fig. L) charakteristischerweise vielstäbige, oft bis 100- und mehr-lange Zellfäden, welche mit Chlorzinkjod deutliche Septierung zeigten. Die Stäbchen schwärmten nicht; sie hatten große Mengen Glykogen gespeichert und zum Teil Sporen entwickelt. In Heuabkochen keimen die Sporen von *Bacillus cohaerens* langsam. Nach 2 Tagen bei 28° ist makroskopisch noch keine Entwicklung wahrzunehmen. Mikroskopisch findet man wenige Doppelstäbchen und 6- bis 8-stäbige Zellfäden, welche vollständig bewegungslos sind. Nach 3—4 Tagen ist ein weißlicher Rand und eine schwach flockige Kahnhaut entwickelt. Die Kultur besteht aus meist vielstäbigen Zellfäden, deren Stäbe vorherrschend 3-, 4- und mehr-lang sind; mit Chlorzinkjod ist in vielen Stäben deutliche Septierung erkennbar. Nach 5—6 Tagen fand ich in der Lösung meist außerordentlich lange Zellfäden, deren Stäbe meist zweilang waren und große Mengen Glykogen gespeichert hatten (Fig. O, R). In vielen Stäbchen sind bereits Sporen entwickelt; an den Polen dieser Sporangien erkennt man mit Jodlösung, wie in Fig. Q, Glykogenablagerung. Die Sporangien haben normal die Form und Größe wie in Fig. P, Q. Schwärmer waren in dieser Heuabkochen nicht nachweisbar.

Wachstum in den verschiedenen Nährlösungen. Nach 4-wöchentlicher Entwicklung bei 28°. *Bacillus cohaerens*, welcher von *Brassica* isoliert war, zeigte in einigen Nährlösungen Randbildung und normale Schwärmer, während der von *Helianthus* isolierte *Bacillus* keinen Rand und keine Schwärmer bildete. Die Intensität des Wachstums war aber bei beiden Formen vollständig gleich. Beobachtet man die Nährlösungen nach dem Umschütteln, so findet man folgendes: Nährlösung O. Lösung trübe, schleimig. Meist Einzel- und Doppelstäbchen, wenige lange vielstäbige Zellfäden. Einzelne Kurzstäbchen (von *Helianthus*) waren in langsamer Wackelbewegung. I und I + Marmor. Lösung trübe, schleimig, schleimiger Bodensatz.

Viele Involutionsformen. Normale Einzel- und Doppelstäbchen, wie vielstäbige Zellfäden. *Bac. cohaerens* von *Brassica* hatte einen Rand gebildet. II. Lösung dick schleimig, schleimiger Bodensatz. Gesunde Kultur. *Bac. cohaerens* von *Brassica* hatte einen Rand gebildet. III. Keine Entwicklung. IV. Lösung trübe. V. Lösung trübe, normale Stäbchen. *Vα*. Lösung trübe, schleimig; meist normale Einzel- und Doppelstäbchen. *Vβ*. Unregelmäßige Entwicklung; manchmal blieb diese nach Impfen mit gesundem Stäbchenmaterial vollständig aus, manchmal war Entwicklung vorhanden; in letzterem Falle wurde die Lösung dann dick schleimig. *Vγ*. Lösung trübe, gute Entwicklung, vorherrschend Zellfadenbildung. *Vδ*. Lösung trübe, schleimig. Einzel- und Doppelstäbchen, vereinzelte in langsamer Bewegung; *Bac. cohaerens* von *Brassica* gut schwärmend. VI. Lösung schwach opaleszierend. VII, VIII, IX, XI. Keine Entwicklung. X. Unregelmäßige Entwicklung.

Intensitätstabelle.

0	I	I + Marmor	II	III	IV	V	Vα	Vβ	Vγ	Vδ	VI, VII	VIII	IX	X	XI	
3	3	3	3	0	2	3	3	0-3	3	3	1	0	0	0	0-3	0

Alkalibildung. Indikator: Dimethylamidoazobenzol. 1) 10 ccm Nährlösung I = 3 ccm $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure, 10 ccm nach 4-wöchentlicher Entwicklung bei 28° = 5 ccm $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure. Alkalibildung in 10 ccm = 2 ccm $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure. 2) 10 ccm Nährlösung *Vβ* = 0,25 ccm $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure, 10 ccm nach 4-wöchentlicher Entwicklung bei 28° = 7,5 ccm $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure. Alkalibildung in 10 ccm = 7,25 ccm $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure. Diastasebildung (untersucht in Nährlösung I und *Vβ*) findet nicht statt. Gasbildung ist nicht vorhanden.

Die wichtigsten Merkmale der Species „*Bacillus cohaerens*“.

Spore. Sporengröße: 0,83—1 μ breit, 1,7—2,2 μ lang. Sporenform: normal Fig. A a, b, c, d, e, f, g; selten Fig. B a, b. Die Sporenmembran ist meistens ohne Reagens kaum sichtbar; mit Jod wird dieselbe gelblich und mit Fuchsin rot gefärbt. Exine und Intine sind nicht zu unterscheiden. Die Sporen schwellen vor der Keimung meistens stark an (Fig. D). Die Keimung erfolgt vorherrschend polar, dann bipolar, seltener seitlich (Fig. E a, b, c, d, e, f, g, h, i, k, l). Die Keimstäbchen können bis 4-lang werden; sie sind 1,11 μ breit. Auf Agar, bei 28° 5 bis 6 Stunden lang, danach 14 Stunden bei Zimmertemperatur von ungefähr 15°, entwickeln sich 20-, 50-, 100- und mehrlange Zellfäden, welche meistens septiert sind (Chlorzinkjod) (Fig. F a, H). Nach 12 Stunden bei 28° sind meistens 2-, 3- bis 12-stäbige Zellfäden (Fig. G, I a, b, c), nach 15—18 Stunden Einzel-, Doppelstäbchen und bis 6- und seltener mehrstäbige Zellfäden entwickelt, deren Stäbe viel Glykogen gespeichert haben (Jodreaktion). Nach 40 Stunden sind 1- und 2-lange Stäbchen, viele schmaler, viele dicker als die Keimstäbchen (Fig. I d, f, K g mit Glykogenreaktion Fig. K a, b, c, d, e, h, i) vorhanden. An den nach Loeffler gefärbten Bakterien erkennt man peritriche Begeißelung (Fig. N). Der Schwärmzustand tritt auf Agar, wie in den Nährlösungen unregelmäßig ein. Nach 3—4 Tagen bei 28° sind Sporen entwickelt, dieselben werden normalerweise mittel-, seltener endständig ausgebildet. Normale Sporangien Fig. M a, b, c, d, e, k, l, selten wie Fig. M f, g, h, i. Die Intensität des Wuchses in den

Nährlösungen I, II = 3 und III, VI, VII = 0 bis 1 ist charakteristisch. Agarstrichkultur. Nach 1—2 Tagen bei 28° oder noch besser, nach 6 Stunden bei 28° und 2 Tagen bei Zimmertemperatur ist eine dicke, mehr oder weniger häutige, schleimige, faltige Kolonie entwickelt. Möhrenkultur. Nach 1—2 Wochen ist eine dicke, glasige, homogene Kolonie entwickelt, welche später mehr oder weniger faltig wird. Alkalibildung findet in Nährlösung I und V β statt. Diastasebildung ist in Nährlösung I und V β nicht vorhanden. Die Gelatine wird langsam verflüssigt.

Bacillus Carotarum Koch (Fig. XIII).

Litteratur: Koch. 1888.

Der Autor dieser Bakterienart sagt 1888. p. 287. „Außer auf *Daucus Carota* habe ich *Bac. Carotarum* auch auf abgekochten Zuckerrüben gefunden.“ Da ich nun auch von denselben Nährsubstraten Bakterien isoliert hatte, lag die Möglichkeit nahe, daß die von Koch als *Bac. Carotarum* beschriebene Bakterienart mit einer von mir gefundenen Art identisch sei. Herr Prof. Arthur Meyer hatte vor mehreren Jahren von Koch eine Kultur des *Bacillus Carotarum* erhalten, und so war ich in der günstigen Lage, *Bac. Carotarum* selbst durcharbeiten und mich somit sicher überzeugen zu können, daß wir in dem *Bac. Carotarum* eine andere, von mir nicht aufgefundene Bakterienart vor uns haben. Weil *Bac. Carotarum* dem *Bac. cohaerens* und *Bac. simplex* sehr nahe steht, hielt ich es für ratsam, zur vergleichenden Uebersicht dieser Bakterienart, auch kurz die Beobachtungen über den Entwicklungsgang von *Bac. Carotarum*, wie die Beschreibungen der Agar- und Möhrenkolonie und des Wachstums in den Nährlösungen zu geben; bezüglich weiterer Charakterisierung der Art verweise ich auf die Originalarbeit von Koch (1888. p. 279—87).

Agarstrichkultur. Nach 15—20 Stunden, bei 28° ist eine dünne, homogene, glasig-weißliche Kolonie entwickelt; nach 1 bis 2 Tagen war dieselbe homogen, weiß, stark glänzend oder matt, weißlich, fein körnig, in der Nähe des Kondenswassers etwas häutig, nach ungefähr 2—5 Tagen weiß, glänzend, homogen, oft teilweise fadenziehend-schleimig. Mehrere Tage alte Kolonien besitzen einen stinkenden Geruch. Alte, trockener gewordene Agarkulturen werden mehr oder weniger braunlich. Hervorheben möchte ich, daß mehrere Tage alte Kolonien niemals fest zusammenhängend, dick-häutig, runzlig wurden. Wachstum auf steriler Möhrenscheibe. Nach ungefähr 5 Tagen ist eine glasige, glänzende, homogene, weißliche, zäh-schleimige Kolonie entwickelt, welche aus nicht schwärmenden Einzel- und Doppelstäbchen, sowie vielstäbigen Zellfäden besteht, deren Stäbe meistens 1- bis 2-lang sind und Glykogen gespeichert haben. Nach 17 Tagen war eine Kolonie von 3 cm Durchmesser vorhanden; dieselbe sah grau, an einigen Stellen gelblich, homogen, feinkörnig, matt, nach der Peripherie zu glänzend, aus und bestand aus normalen 1- bis 2-langen Ruhestäbchen mit großen Glykogenmengen, Sporangien und Involutionsformen; seltener

fand man lange, schmale, unseptierte Zellfäden (Chlorzinkjod). Eine ungefähr 2 Monate alte Kolonie war braun; aus dieser, sich fettig, wachsartig anfühlenden, braunen Bakterienmasse war der braune Farbstoff mit Wasser, absol. Alkohol, Aether, Chloroform und Xylol nicht zu extrahieren; 95-proz. Alkohol wurde schwach gelblich gefärbt.

Entwicklungsgang von *Bacillus Carotarum* auf Dextroseagar. Die Sporen sind vorherrschend wie Fig. A a, b, c, d, e, f, g, seltener wie Fig. B a, b, c gestaltet; sie sind ungefähr 1,31 bis 2,2 μ lang und bis 1 μ breit. Die Sporenmembran ist meistens ohne Reagens nicht sichtbar, erst nach Durchfärbung mit Fuchsin oder mit Hilfe von Jodlösung wird sie gut erkennbar; Exine und Intine sind (mit Immersion Zeiß $\frac{1}{12}$, Ap. 1,3) nicht zu unterscheiden. Nach ungefähr 6 Stunden keimen die Sporen auf Agar; vor der Keimung schwellen sie häufig relativ stark an (Fig. C). Am häufigsten findet man äquatoriale Keimung mit Kurzstäbchen (Fig. D a, b, c), seltener polare Keimung (Fig. D d). Die Keimstäbchen, wie auch die später aus ihnen durch weitere Teilung hervorgegangenen Stäbchen, schwärmten niemals; auch auf Nährböden von anderer Zusammensetzung, wie beispielsweise auf Agar ohne Dextrose, Malz-Gelatine und in verschiedenen Nährlösungen, war keine Schwärmthätigkeit zu erzielen. Bald nach der Keimung wächst *Bac. Carotarum* zu mehr oder weniger langen Zellfäden aus. Bei Zimmertemperatur entwickeln sich 50-, 100- und mehr-lange Zellfäden, welche sehr häufig in charakteristischer Weise sehr kurz-zellig (Chlorzinkjod) (Fig. E a, b) septiert sind. Nach 7—8 Stunden (wie immer bei 28°) sind meistens Doppelstäbchen und 4-, 8-, seltener mehrstäbige Zellfäden entwickelt, deren Stäbe meist 2-, 3-, seltener 4-lang und ungefähr 0,97—1 μ breit und septiert (Fig. F) (Chlorzinkjod) sind. Nach 15—20 Stunden sind Doppelstäbchen, bis 12-stäbige, seltener bis 50- und 100-stäbige und einzellige, 20- und mehr-lange (Chlorzinkjod) Zellfäden vorhanden, welche Glykogen gespeichert haben; nach ungefähr 36 Stunden findet man im oberen Teile der Agarkolonie vorherrschend Einzel- und Doppelstäbchen, deren Stäbe 1-lang sind, im unteren Teile Einzel- und Doppelstäbchen, deren Stäbe 1- und 2-lang und 1- bis 2-zellig (Chlorzinkjod) sind und 4-, 6- bis 8-, seltener mehrstäbige Zellfäden (Fig. G), selten 1- bis mehrstäbige Zellfäden, deren Stäbe 10- bis 20-zellig sind (Chlorzinkjod). Fast alle Stäbchen hatten große Glykogenmengen gespeichert. Nach ungefähr 60 Stunden sind im oberen Teile der Agarkolonie vorherrschend Kurzstäbchen entwickelt, welche jetzt häufig eine feinkörnige Struktur besitzen (Fig. H a, b, c, d, e, f). Diese körnchenartigen Einschlüsse färbten sich nach der Sudan-Methylenblaufärbung nicht, während sie mit Jodlösung die Glykogenreaktion gaben. In der Nähe des Kondenswassers findet man noch 1- bis 3-lange Stäbchen. Sporen waren noch keine entwickelt; selbst nach 5 Tagen waren in den normalen, mit Kondenswasser versehenen, also feuchten Agarkolonieen noch keine Sporen vorhanden; ich fand normale kurze Einzel- und Doppelstäbchen und charakteristische Zellfäden, deren Zellen mehr

oder weniger stark angeschwollen waren, wie Fig. K. Nach 6 bis 7 Tagen fand ich Einzel- und Doppelsporangien, wie auch mehrstäbige Zellfäden, mit aus einlangen Sporangien bestehenden Stäbchen (Fig. L, M a, b, N, O, P). Die Sporangien können normal stäbchenförmig oder ellipsoidisch gestaltet sein, s. Fig. O; die Sporen, welche rundlich erscheinen und nicht bis an die Längsseiten der Sporangienmembranen heranreichen, werden sowohl mittel- wie endständig ausgebildet. Aus den Geißelfärbungen war es mit Sicherheit nicht zu erkennen, ob Geißeln entwickelt werden; viele klare Präparate zeigten häufig gekrümmte, oft eingerollte, kurze geißelartige Gebilde, wie auch gleichmäßig nach allen Seiten hin ausgebreitete, dünne Fäden, wie ich dieselben auch an schlechteren Präparaten bei *Bacillus cohaerens* beobachtet hatte, und ich glaube daher wohl annehmen zu können, daß Geißeln entwickelt werden.

Erwähnen möchte ich hier noch besonders, daß diese Angaben sich nur auf die Entwicklung auf kondenswasserhaltigem Agar beziehen, denn impft man beispielsweise abgekochte Sporen auf vollständig trockenen, also kondenswasserfreien Agar, so findet man nach ungefähr 20 Stunden, bei 28° in der gleichmäßig weißen, homogenen Kolonie fast nur Kurzstäbchen wie Fig. H b, c, nach 36 Stunden nur normale Sporangien.

Entwicklungsgang von *Bacillus Carotarum* in Heuinfus. Nach dem Impfen mit Sporen findet man nach 2 bis 3 Tagen, bei 28° auf der Oberfläche der Flüssigkeit eine wolkige, schleimige, glänzende Haut und am Reagenzglas einen weißlich-schleimigen Rand, welcher aus Zellfäden besteht, die aus bis 400 normalen Sporangien zusammengesetzt sind. Nach ungefähr 5 Tagen wird die Lösung nach dem Umschütteln trübe, schleimig und man findet dann in derselben 4-, 6-, 10-, 20- bis 50- und mehrstäbige Zellfäden, deren Stäbe meistens 2-zellig sind (Chlorzinkjod). Außer den Stäbchen von normaler Breite findet man mehr oder weniger stark angeschwollene Einzel- und Doppelstäbchen und vielzellige Zellfäden, welche große Mengen Glykogen gespeichert haben (Fig. K). Nach mehreren Wochen wird die Lösung stärker schleimig. Schwärmer waren niemals zu finden.

Wachstum in den verschiedenen Nährlösungen. Nach 4-wöchentlicher Entwicklung bei 28°. Nährlösung 0. Gute Entwicklung, braunrote Kahlhaut, Lösung trübe, Bodensatz; außer Einzel- und Doppelstäbchen viele sehr lange, vielstäbige Zellfäden. I. Entwicklung; Lösung klar, gelblicher Bodensatz. III. Keine Entwicklung. IV. Schwache Entwicklung, Bodensatz. V₂, V₃, V_γ. Keine Entwicklung. V_δ. Entwicklung, dünne, lockere, braune Kahlhaut; Bodensatz. VI. Schwache Entwicklung; Lösung trübe; gelblicher Bodensatz. VII. Entwicklung; gelblicher Bodensatz, gelb-braune Kahlhaut. VIII, IX, X, XI. Keine Entwicklung.

Intensitätstabelle.

0	I	II	III	IV	V	V _α	V _β	V _γ	V _δ	VI	VII	VIII	IX	X	XI
4	3	3	0.1	0.2	0	0	0	0	-2	1.2	2.3	0	0.1	0	0

Alkalibildung war in Nährlösung VII und V_δ (nach 4-wöchentlicher Entwicklung) vorhanden. Die Gelatine wird verflüssigt.

Bacillus fusiformis A. M. et Gottheil (Fig. IV).

Diese Species wurde auf *Beta vulgaris lutea* gefunden. In der Form der Sporangien ist *Bac. fusiformis* dem *Bac. oedematis* Liborius sehr ähnlich; er unterscheidet sich jedoch von letzterem *Bacillus* schon dadurch, daß er streng aërob und, wie Herr Prof. Bonhoff zu prüfen die Güte hatte, für Meerschweinchen nicht pathogen ist. Gelatineplattenkultur. Nach 3 Tagen sind sehr kleine, mikroskopisch beobachtet, runde, scharf umrandete, bei weit geöffneter Blende grau, feinkörnig aussehende Kolonien entwickelt. Nach mehreren Tagen werden dieselben unregelmäßiger und zeigen weiter keine charakteristischen Eigenschaften. Nach ungefähr 8 Tagen begann bei Platten mit vielen Kolonien die Verflüssigung der Gelatine. Gelatine Stichkultur. Nach ungefähr 12 Tagen war die Gelatine etwas trichterförmig verflüssigt; die Verflüssigung erreichte jedoch noch nicht die Glaswand; in der tieferen Stelle des Trichters hatte sich eine dicke, weiße, sedimentartige Bakterienmasse angesammelt. Die Verflüssigung der Gelatine schreitet nur langsam vorwärts; nach 2 Monaten war in einer Stichkultur die Gelatine in 1 cm Höhe verflüssigt, dieselbe war vollständig undurchsichtig, gleichmäßig trübe. Im Stich findet keine Entwicklung statt. Agarstichkultur. Nach 15—20 Stunden ist eine glasige, glänzende, homogene Kolonie entwickelt; dieselbe wurde auf Agar mit vielem Kondenswasser, bei ruhigem Stehen sehr dünn, glänzend, häutig; nach mehreren Tagen glasig-glänzend, nicht schleimig. Agarstichkultur. Auf der Oberfläche entwickelt sich eine homogene, glasige Kolonie; in den Stich drang dieselbe nur wenige Millimeter tief ein. Wachstum auf steriler Möhrenscheibe. *Bacillus fusiformis* wächst auf der Möhre schlecht; nach 12 Tagen, wie auch nach Wochen, findet man eine sehr dünne, wässrige, etwas graue Kolonie entwickelt; dieselbe wurde nicht schleimig. Die Möhrenscheibe wird nicht zerfressen. Kartoffelkultur. Auf der sterilen Kartoffelscheibe blieb die Entwicklung vollständig aus. Wachstum auf steriler Rübenscheibe. Entweder findet nur eine schwache, oder überhaupt gar keine Entwicklung statt. Auf einer sehr feuchten Rübenscheibe (*Beta vulgaris lutea*) und speziell in deren Flüssigkeit fand ich einmal nach 12 Tagen normale Schwärmer und Involutionsformen; selbst nach mehreren Wochen keine Sporen. Interessant war das Auftreten sehr vieler, anormal, dicker, plasmareicher Stäbe mit seitlichen, armartigen Ausbuchtungen. In diesen oft y-artig geformten Gebilden konnte ich mit Chlorzinkjod Septierungen nicht nachweisen. Fett oder Glykogen wurden nicht gespeichert.

Entwicklungsgang von *Bacillus fusiformis* auf Dextroseagar. Die meisten Sporen der 14 Monate alten Agarkolonie, von welcher ich ausging, waren zu Grunde gegangen, und die wenigen noch entwicklungsfähigen Sporen waren noch von den Sporangienmembranen umgeben. Nachdem eine Agarkolonie, welche aus den alten Sporen hervorgegangen war, ungefähr 8 Tage

bei 28° gestanden hatte, benutzte ich die in derselben entwickelten Sporen, welche meistens von den Sporangienmembranen eingeschlossen waren, zur weiteren Untersuchung. Dieselben sind normalerweise rund (Fig. A a, b, c, d, e) und besitzen einen Durchmesser von 1,3–1,8 μ ; an ganz vereinzelt Sporen scheint ein schwaches Spitzchen ausgebildet zu werden (Fig. C a); selten sind die Sporen so groß wie (Fig. B). Ohne Reagens ist die Sporenmembran nicht zu erkennen, erst mit Hülfe von Fuchsin- oder Jodlösung wird dieselbe gut sichtbar (Fig. A a); Exine und Intine sind (mit Immersion Zeiß $\frac{1}{12}$, Ap. 1,3) nicht zu unterscheiden. Die Sporen keimen auf Agar nach 7–8 Stunden; vor der Keimung schwellen sie stark an, und an den meisten dieser angeschwollenen, kurz vor der Keimung befindlichen Sporen findet man noch die erhalten gebliebene Sporangienmembran (Fig. D a, b). Die Keimung erfolgt polar (Fig. E a, b, c, d, e); häufig sieht man wie die Keimstäbchen, welche 1–1,2 μ breit werden, die Sporangienmembranen abstoßen (Fig. E a, d); an vielen jungen, bereits 2- und mehrlängigen Stäbchen findet man, wie in den Fig. E c, f, F, noch außer der Sporenmembran die Sporangienmembran festhaften. Bald nach der Keimung beginnen die Bakterien äußerst lebhaft zu schwärmen. Nach ungefähr 15–20 Stunden findet man in der glasigen, homogenen, nicht schleimigen Kolonie vorherrschend lebhaft Einzel- und Doppelschwärmer von normaler Breite und sehr variierender Länge, wie Fig. H a, b, c, d, e, f, g, I a, b, nur wenige bis 4-läng (Fig. G). Gleichzeitig sind auch bereits mehr oder weniger bauchig angeschwollen, vor der Sporenbildung befindliche Stäbchen entwickelt (Fig. I c, d, e, f, g, h, i), welche häufig noch schwärmen, meistens aber schon in den Ruhezustand übergegangen sind. Man kann bei *Bac. fusiformis* interessanterweise, wie bei *Bac. asterosporus* (Arthur Meyer. Flora. 1897. p. 189), welche beiden Species sich in morphologischer Beziehung auch nahestehen, beobachten, daß die Schwärmer in der Weise sich zu Kolonien zusammenlegen, daß ein Schwärmer in den Ruhezustand übergeht und zahlreiche Schwärmer auf denselben zuschwimmen, das Stäbchen verlassen, sich ihm wieder nähern und dieses Spiel solange fortsetzen, bis sie sich zuletzt neben ihm zur Ruhe legen. So findet man im Kondenswasser neben vielen Schwärmern kleine zusammenhängende Kolonien von Ruhestäbchen. Nach 22–24 Stunden findet man 1-, seltener 2-lange Schwärmer, Ruhestäbchen und Sporangien; nach 2 Tagen vorherrschend Sporangien, weniger Schwärmer und Ruhestäbchen, im Kondenswasser dagegen vorherrschend Schwärmer und wenige Ruhestäbchen und Sporangien. Nach 3–6 Tagen sind im Kondenswasser noch viele Schwärmer, Einzel-, Doppelstäbchen und 4- bis 6-stäbige Zellfäden, deren Stäbe verschieden lang sind, vorhanden; in circa 14 Tage alten Kolonien fand ich viele 10-, 20- und mehrlange Zellfäden und viele Stäbchen noch lebhaft schwärmend. Glykogen oder Fett waren in den Bakterien, welche sich sowohl auf Agar mit oder ohne Dextrose, als auch auf Malz-Gelatine entwickelt hatten, nicht nachweisbar; mit Jodlösung erkennt man, vorzüglich in den angeschwollenen Ruhestäbchen, große Vakuolen

(Fig. K a, b, c, d, e). Die Sporangien sind äußerst verschiedenartig und charakteristisch gestaltet, vorzüglich bauchig oder trommelschlägerartig angeschwollen (Fig. L a, b, c, d, e, f, g, h, i, k, l, m, n, o). Diese Species besitzt peritriche Begeißelung (Fig. M, N); die Geißelfärbung gelingt leicht.

Entwicklungsgang in Nährlösung. Die Sporen von *Bac. fusiformis* keimen in Nährlösung II, (Pepton 0,5, Trockensubstanz der Bierwürze 1,5, Mannit 1,0 Wasser 100,0). Nach ungefähr 20 Stunden, bei 28° sind in der schwach getrübbten Lösung sehr lebhafte normale Einzel- und Doppelschwärmer entwickelt, welche weder Fett noch Glykogen gespeichert haben. Nach ungefähr 40 Stunden findet man Schwärmer, Ruhestäbchen und Sporangien: die Lösung ist stärker getrübt, und an der Oberfläche sammeln sich Ruhestäbchen an, ohne daß aber eine Kahmhaut entwickelt wird. Nach 15 Tagen sind in der undurchsichtigen, trüben Lösung 1-, 2- und mehrlange Schwärmer, Ruhestäbchen und die normalen für *Bac. fusiformis* charakteristischen Sporangien vorhanden; Fett oder Glykogen waren auch in den Stäbchen älterer Kulturen nicht nachweisbar; viele Stäbchen besaßen, wie in Fig. O dargestellt, körnchenartige Einschlüsse, die sich jedoch nach der Sudan-Methylenblaumethode nicht färbten.

Wachstum in den verschiedenen Nährlösungen. Nach 4-wöchentlicher Entwicklung bei 28°. Nährlösung 0. Normale, gute Entwicklung, vorherrschend 2- bis 20-, seltener mehr-lange oft unseptierte Stäbe, weniger ein-lange Einzel- und Doppelstäbchen und mehrstäbige Zellfäden; viele Stäbchen lebhafte schwärmend. I. und II. gute Entwicklung Einzel-, Doppelstäbchen und mehrstäbige Zellfäden Stäbe bis 10- lang, meist lebhafte schwärmend. III. Lösung trübe, außer kurzen Einzel- und Doppelstäbchen, lange vielstäbige Zellfäden. Stäbe bis 10-, 20- und mehr-lang, unseptiert (Chlorzinkjod), häufig lebhafte schwärmend. IV, V, Va, Vβ, VI, VII, VIII, IX, X, XI keine Entwicklung. Vγ. Lösung schwach, kaum getrübt; wenige Schwärmer, Ruhestäbchen, Sporangien. Vδ. Lösung opalesciert, kaum Entwicklung; 2- und mehr lange Ruhestäbchen.

Intensitätstabelle.

0	I	II	III	IV	V	Vα	Vβ	Vγ	Vδ	VI	VII	VIII	IX	X	XI
3	3	3	1-2	0	0	0	0	0-1	0-1	0	0	0	0	0	0

Alkalibildung: Alkalibildung ist vorhanden; Lakmuspapier wird schwach gebläut (untersucht nach 4-wöchentlicher Entwicklung bei 28° in den Lösungen 0, I, II, III). Diastasebildung ist (untersucht in Nährlösung I und II nach 4-wöchentlicher Entwicklung bei 28°) nicht vorhanden. Gasbildung findet nicht statt.

Wichtigste Merkmale der Species „*Bacillus fusiformis*“.

Spore: Sporengröße: 1,3—1,8 μ im Durchmesser. Sporenform: rund (Fig. A a, b, c, d, e, B). Die reifen Sporen sind meistens noch von der Sporangienmembran umgeben (Fig. C a, b). Die Sporenmembran wird erst mit Hilfe von Fuchsin- oder Jodlösung gut sichtbar (Fig. A a); Exine und Intine sind nicht zu unterscheiden. Vor der Keimung schwellen die Sporen stark an; sie keimen auf Agar nach 7—8 Stunden. Die Keimung erfolgt polar (Fig. E a, b, c, d, e, f). Die Keimstäbchen werden

1—1,2 μ breit; bald nach der Keimung beginnen die Stäbchen sehr lebhaft zu schwärmen. Auf Agar, nach 15—20 Stunden, findet man vorherrschend Einzel- und Doppelschwärmer, wie Fig. H a, b, c, d, e, f, g, seltener etwas bauchig angeschwollene, vor der Sporenbildung befindliche Stäbchen, wie Fig. I c, d, e, f, g, h, i. An den nach Loeffler gefärbten Schwärmern erkennt man peritriche Begeißelung (Fig. M, N). Nach 1—2 Tagen sind auf der Agarfläche vorherrschend Sporangien entwickelt. Dieselben sind sehr charakteristisch; ihre Form entspricht den Fig. L a, b, c, d, e, f, g, h, i, k, l, m, n, o. Im Kondenswasser findet man nach 6 Tagen und länger noch viele lebhaft Schwärmer. Weder Glykogen noch Fett waren nachweisbar. Die Intensität des Wuchses in den Nährlösungen: O, I, II = 3; V, Va, V β , V γ , X = 0 ist charakteristisch. Agarstrichkultur. Die Kolonie ist nach 1 Tage glasig, glänzend, homogen, nicht häutig und verändert ihr Aussehen auch in den nächsten Tagen fast nicht. Möhrenkultur. Es findet nur sehr schlechte Entwicklung statt; nach ungefähr 12 Tagen entwickelte sich eine ganz dünne, wässerige, graue Kolonie. Alkalibildung ist in Nährlösung O, I, II, III vorhanden. Diastasebildung (in Nährlösung I und II) ist nicht vorhanden. Die Gelatine wird langsam verflüssigt.

Bacillus asterosporus (A. M.) Migula.

Möglicherweise synonym: *Bacillus subanaërobicus* (Gruber, Eine Methode der Kultur anaërobischer Bakterien. Centr. f. Bakt. Bd. I. 87. p. 71). *Bacillus thalassophilus* Russell (Unters. über im Golf von Neapel lebende Bakterien. Zeitschr. f. Hyg. Bd. XI. 1892. p. 190).
Litteratur. A. Meyer, Sitzber. d. Gesellsch. z. Beförder. d. ges. Naturv. Marburg, Juli 97. A. Meyer. Flora. 1897. und 1899. Migula. Flora 98.

Diese Species wurde auf: *Daucus Carota*, *Apium graveolens*, *Beta vulgaris lutea*, *Brassica oleracea gongyloides*, *Physostigma virginiana*, *Iris sambucina*, *Phlomis Russeliana*, *Brassica Napus esculenta* gefunden.

In den angeführten Arbeiten ist *Bacillus asterosporus* bereits genau beschrieben, und ich verweise deshalb bezüglich der Bestimmung dieser Species auf die Angaben des Herrn Prof. A. Meyer, Flora. 97, 99. Hinzufügen möchte ich noch folgendes:

1) Sowohl auf Agar mit Dextrose, wie auch z. B. in Heuabkochung speichern die Ruhestäbchen Glykogen, dieses wird in den noch stäbchenförmigen Bakterien meist nur körnig, in den später bauchig angeschwollenen, kurz vor der und während der Sporenbildung befindlichen, Bakterien meist reichlich, bandförmig, abgelagert.

2) Nach ungefähr 5—6-tägiger Entwicklung, bei 28° finden wir: Nährlösung O stark schleimig; viele Involutionsformen, wenige Sporangien. I und I + Marmor. Starke Entwicklung, Sporangien, Sporen und viele Involutionsformen. II. Sehr starke Schleimbildung, Sporangien, Sporen, keine Involutionsformen. III. Schwache Entwicklung, Ruhestäbchen, Sporangien, Sporen. IV. und V. Entwicklung äußerst schwach. Va. Lösung trübe, nach

4 Wochen stark schleimig. VI. Schwache Entwicklung, wenige Schwärmer. $V\beta$, $V\gamma$, $V\delta$, VII, VIII, XI. Keine Entwicklung. IX. Lösung trübe, Sporangien und Sporen. X. Schwache opalesc. Trübung. Nachdem diese Lösungen noch einige Tage bei Zimmer-temperatur gestanden hatten, bemerkte ich plötzlich, daß in Nähr-lösung VI (weinsaur. Ammon, Glycerin, Rohrzucker, mineral. Lösung) eine starke Entwicklung stattgefunden hatte. Ich glaube nun, daß dieser plötzliche Umschlag wohl darauf zurückzuführen ist, daß der in der Lösung befindliche Rohrzucker langsam, wie jetzt mit Feh-ling'scher Lösung nachweisbar war, invertiert worden ist, und daß der Invertzucker für die Ernährung von *Bac. asterosporus* günstig ist.

Intensitätstabelle. (Nach 3—4-wöchentlicher Entwicklung bei 28°.)

0	I	I + Marmor	II	III	IV	V	$V\alpha$	$V\beta$	$V\gamma$	$V\delta$	VI	VII	VIII	IX	X	XI
-4	-4	-4	4	1	1	1-2	3	0	0	0	2-3	0	0	-2	1	0

Botanisches Institut der Universität Marburg, Febr. 1901.

Litteraturverzeichnis.

- Aderhold, Untersuchungen über das Einsäuern von Früchten und Gemüsen. (Zeitschrift für wissenschaftl. Landwirtschaft. Bd. XXVIII. 1899.)
 Auerbach, Ueber die Ursache der Hemmung der Gelatineverflüssigung durch Bakterien durch Zuckerzusatz. (Archiv f. Hygiene. 1897. p. 311.)
 Billroth, Untersuchungen über die Vegetationsformen der *Coccobacteria septica*. Berlin 1879.
 Brefeld, Untersuchungen über die Spaltpilze. (Botan. Zeitung. 1878.)
 — Botan. Studien über Schimmelpilze. Bd. IV. 1881.
 Burchard, Arbeiten aus dem bakt. Institut der techn. Hochschule zu Karlsruhe. Bd. II. Heft 1. 1898.
 Cohn, Beiträge zur Biologie der Pflanzen. 1876. Heft 2.
 Deetjen, Ueber Bakterien der Wurst. [Dissert.] Würzburg. 1893.
 Engelhardt, Fritz, Vergleichende Untersuchungen über *Proteus vulgaris*. *Bacterium Zopfii* und *Bacillus mycoides*. [Inaug.-Diss.] Erlangen 1897.
 Fischer, Alfred, Untersuchungen über Bakterien. (Pringsheim's Jahrbücher. 1895.)
 Flügge, *Bacillus mycoides*. Die Mikroorganismen. Flügge. 1886, 1896.
 Frank, Ueber die Mikroorganismen des Erdbodens. (Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft. 1886. Heft 11.)
 Gerstner, Beiträge zur Kenntnis obligat anaerober Bakterienarten. (Arbeiten aus dem bakt. Institut zu Karlsruhe. 1894. Heft 2. p. 165.)
 Grethe, Ueber die Keimung der Bakteriensporen. (Fortschritte der Medizin. 1897.)
 Happ, Bakteriolog. und chem. Untersuchungen über die schleimige Gärung. Basel 1893.
 Hartleb, Repräsentiert das Alinitbakterium eine selbständige Art? (Centralbl. für Bakteriologie. Bd. V. 1899. p. 706.)
 Klepsoff, Zur Frage über den Einfluß niederer Temperatur auf die vegetativen Formen des *Bacillus anthracis*. (Centralbl. für Bakteriologie. Bd. XVII. 1895. p. 289.)
 Koch, Alfred, Ueber Morphologie und Entwicklungsgeschichte einiger endosporer Bakterienformen. (Botan. Zeitung. 1888. No. 18.)
 Kolkwitz, Beiträge zur Kenntnis der Erdbakterien. (Centralbl. für Bakteriologie. Bd. V. 1899. p. 670.)
 Krüger und Schneidewind, Untersuchungen über Alinit. (Zeitschrift für wissenschaftl. Landwirtschaft. 1899. p. 580.)
 Kruse, Systematik der Bakterien in Flügge. Die Mikroorganismen. 2. T. 1896.

- Kruse, Wachstum in künstlichen Nährböden und Koloniebildung, Gelatineverflüssigung und Schleimbildung. 1. Teil. 1896. p. 490.
- Kuhn, Morpholog. Beiträge zur Leichenfäulnis. (Archiv für Hygiene. 1891. p. 70.)
- Lauck, Welches sind die Bestandteile des als Alinit bezeichneten Impfdüngers für Saatgetreide, welcher den Halmfrüchten einen Körnergewichts-Mehrertrag bis zu 40 Proc., auch ohne erhebliche Stickstoffzufuhr verschaffen soll? (Centralbl. für Bakteriologie. Bd. IV. 1898. p. 290.)
- Wissenschaftliche und praktische Studien über die Entstehung und Wirksamkeit der beiden landwirtschaftl. bakteriol. Impfdünger „Nitragin“ und „Alinit“, mit besonderer Berücksichtigung des letzteren. (Centralbl. für Bakteriologie. Bd. V. 1899. p. 54.)
- Lehmann und Neumann, Lehrbuch der speziellen bakteriolog. Diagnostik. 1896.
- Lyons, E., Ueber den Einfluß eines wechselnden Traubenzuckergehaltes im Nährmaterial auf die Zusammensetzung der Bakterien. (Archiv für Hygiene. 1897.)
- Marchal, Emile, The production of ammonia in the soil by microbes. (Referat: Centralbl. für Bakteriologie. Bd. I. 1895. p. 753.)
- Matzschita, Ueber die Veränderlichkeit der Eigenschaft des Bacillus anthracis, Gelatine zu verflüssigen. (Centralbl. für Bakteriologie. Bd. XXVIII. 1900. p. 304.)
- Meyer, Arthur, Neues über die Morphologie der Bakterienzelle und die Entwicklungsgeschichte der Bakteriensporen. (Sitzb. der Gesellschaft zur Beförderung der Naturwissenschaften. Marburg 1897.)
- Studien über die Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Bakterien, ausgeführt an *Astasia asterospora* A. M. und *Bac. tumescens* Zopf. (Flora. Erg.-Bd. 1897. Bd. LXXXIV. p. 185.)
- Ueber Geißeln, Reservestoffe, Kern- und Sporenbildung der Bakterien. (Flora. Bd. LXXXVI. 1899. p. 428.)
- Migula, System der Bakterien. Bd. I. 1897 und Bd. II. 1900. Jena.
- Weitere Untersuchungen über *Astasia asterospora* A. Meyer. (Flora. Bd. LXXXV. 1898.)
- Referat über die Arbeit von Burchard „Beiträge zur Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Bakterien.“ (Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den Gärungsorganismen von Koch. Jahrg. IX. 1900. p. 26.)
- Mironesco, Th., Ueber eine besondere Art der Beeinflussung von Mikroorganismen durch die Temperatur. (Hygien. Rundschau. Jahrg. IX. 1899. No. 19. p. 961.)
- Mühlschlegel, Ueber die Bildung und den Bau der Bakteriensporen. (Centralblatt für Bakteriologie. Bd. VI. 1900.)
- Prazmowski, Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bakterienarten. Leipzig 1880.
- Ritsert, Bakteriolog. Untersuchungen über das Schleimigwerden der Infusa. (Berichte der pharmazeut. Gesellschaft. Bd. I. 1891. p. 389—99.)
- Ritter, G. Die Abhängigkeit der Plasmaströmung und der Geißelbewegung vom freien Sauerstoff. (Flora. 1899.)
- Schreiber, Oswald, Ueber die physiologischen Bedingungen der endogenen Sporenbildung bei *Bacillus anthracis*, *subtilis* und *tumescens*. (Centralbl. für Bakteriologie. Bd. XX. 1896. p. 429.)
- Stoklasa, Biologische Studien über Alinit. (Centralbl. für Bakteriologie. Bd. IV. 1898. p. 78.)
- Stutzer und Hartleb, Untersuchungen über das im Alinit enthaltene Bakterium. (Centralbl. für Bakteriologie. Bd. IV. 1898. p. 31.)
- Ward, H. M., The formation of bacteriol. colonies. (Annals of Botany. Vol. IX. 1895. p. 653—57.)
- Zopf, Spaltpilze. 1883, 1885.
- Zopf und Liesenberg, Ueber den sogenannten Froschlaichpilz (*Leuconostoc*) der europäischen Rübenzucker- und der javanischen Rohrzuckerfabriken. (Zopf, Beiträge zur Physiologie und Morphologie niederer Organismen. Leipzig 1892.)
- Einige Arbeiten, welche sich auf von gleichen oder ähnlichen Substraten isolierte Bakterien beziehen, deren Beschreibungen, teilweise auch Methoden unzureichend sind und deshalb in meiner Abhandlung keine Erwähnung fanden:

- Gordon, Paul, Ueber Fäulnisbakterien in Obst und Gemüse. [Diss.] Erl. 1897.
 Nicolai, K. Heinrich, Bakteriolog. Studien über Wurzeln und Samen von *Hedysarum coronarium*. [Diss.] Erlangen 1900.
 Weiß, Erich, Ueber drei in gesäuerten Rübenschnitzeln neu aufgefundenene Milchsäurebakterien. [Diss.] Göttingen 1898.
 Weil, Richard, Die Entstehung des Solanins in den Kartoffeln, als Produkt bakterieller Einwirkung. (Archiv für Hygiene. Bd. XXXVIII. 1900.)

Tafelerklärung.

Vergrößerung 1800fach (ausgenommen Fig. XIV).

Die kleinen Kreise innerhalb der Stäbchen in den Figuren I, II, III, IIIa, IIIb, V, VI, VII sollen Fetttropfchen, die hellgrauen Färbungen in den Figuren IX, XI, XII, XIII sollen durch Jod braunrot gefärbtes Glykogen darstellen. — Fig. I *Bacillus ruminatus*. A, B und C Sporen mit den für diese Species charakteristischen Hüllen. B soll zeigen, wie der Rand der Hülle nach Reaktion mit Methylenblaulösung 1:40 sichtbar wird. C b, c soll die Hülle, wie dieselbe ungefähr nach Reaktion mit Methylenblaulösung 1:10 zu erkennen ist, darstellen. In den Abbildungen O a, b, Q sind es ebenfalls die Hüllen, wie dieselben nach Behandlung der fertig entwickelten Sporangien mit Methylenblaulösung 1:10 hervortreten, dargestellt. — Fig. II. *Bacillus tumescens*. — Fig. III. *Bacillus graveolens*. R a, b, c, d Involutionsformen. Die Graufärbung des Plasmas deutet die Blaufärbung desselben bei der Sudan-Methylenblaufärbung an. — Fig. IIIa. *Bacillus graveolens* α. — Fig. IIIb. *Bacillus graveolens* α. P Stäbchen mit angelegten Sporenvakuolen. — Fig. IV. *Bacillus fusiformis*. — Fig. V. *Bacillus Ellenbachensis*. In den Figuren C a, b ist durch Graufärbung angedeutet, wie die Sporenmembran nach Behandlung der Sporen mit Fuchsinlösung sichtbar wird. E zeigt Vakuolen, wie dieselben nach Reaktion mit Methylenblaulösung 1:40 erkennbar werden. In H entspricht die Graufärbung des Plasmas der Blaufärbung desselben bei Anwendung der Sudan-Methylenblaureaktion. — Fig. VI. *Bacillus mycoides*. D zeigt die Septierung des Zellfadens, welcher nach Färbung mit Methylenblaulösung und T, K die, welche nach Reaktion mit Chlorzinkjodlösung sichtbar wird. — Fig. VII. *Bacillus Petasites*. In C sieht man Vakuolen, wie dieselben bei Färbung mit Methylenblaulösung 1:40 sichtbar werden. — Fig. VIII. Siehe das Kapitel „Ueber Größmessungen“. — Fig. IX. *Bacillus subtilis*. — Fig. Xa. *Bacillus pumilus*. — Fig. Xb. *Bacillus pumilus* α. — Fig. XI. *Bacillus simplex*. — Fig. XII. *Bacillus cohaerens*. — Fig. XIII. *Bacillus Carotarum*. — Fig. XIV. *Bacterium Petroselini* (= *Bacillus Ellenbachensis*); Keimung.

Referate.

Eriksson, Jacob, Tabellarische Uebersicht der in Schweden auftretenden Getreiderostpilzformen. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. X. 1900. Heft 3 u. 4. p. 142—146.)

Nach dieser Uebersicht sind bisher in Schweden folgende Rostpilzformen auf Roggen, Weizen, Gerste und Hafer festgestellt worden:

- Auf Roggen: *Puccinia graminis* f. sp. *Secalis* — Roggenschwarzrost
P. glumarum f. sp. *Secalis* — Roggengelbrost
P. dispersa — Roggenbraunrost.
 Auf Weizen: *P. graminis* f. sp. *Tritici* — Weizenschwarzrost
P. glumarum f. sp. *Tritici* — Weizengelbrost
P. triticina — Weizenbraunrost

- Auf Gerste: *P. graminis* f. sp. *Secalis* — Gerstenschwarzrost
P. glumarum f. sp. *Hordei* — Gerstengelbrost
P. simplex — Gerstenzwergrost
 Auf Hafer: *P. graminis* f. sp. *Avenae* — Haferschwarzrost
P. coronifera f. sp. *Avenae* — Haferkronrost.

Von wilden Gräsern aus können angesteckt werden:

- Roggen und Gerste mit Schwarzrost durch f. sp. *Secalis* auf *Hordeum jubatum*, *Triticum caninum*, *T. desertorum*, *T. repens*, *Elymus arenarius*, *Bromus secalinus*.
 Roggen und Braunrost durch *P. bromina* auf *Bromus*-Arten, durch *P. agropyryna* auf *Triticum repens*.
 Hafer mit Schwarzrost durch f. sp. *Avenae* auf *Avenae elatior*, *A. sterilis*, *Dactylis glomerata*, *Alopecurus pratensis*, *Milium effusum*, *Lamarckia aurea*, *Trisetum distichophyllum*.
 Weizen scheint durch keine andere Gras- und Getreideart angesteckt werden zu können.

Es werden überhaupt unterschieden die folgenden Arten und spezialisierten Formen:

- I. Schwarzrost, *Puccinia graminis* (*Aecidium Berberidis*) mit den spezialisierten Formen: 1) *Secalis*, 1) *Avenae*, 3) *Tritici*, 4) *Airae*, 5) *Agrostis*, 6) *Poa*.
- II. Timotheegrasrost, *Puccinia Phlei-pratensis* auf *Phleum pratense* und *Festuca elatior* (*Aec. O.*).
- III. Gelbrost, *Puccinia glumarum* (*Aec. O.*) mit den spezialisierten Formen: 1) *Tritici*, 2) *Secalis*, 3) *Hordei*, 4) *Elymi*, 5) *Agropyri*.
- IV. Roggenbraunrost, *Puccinia dispersa* (*Aec. Anhusae*).
- V. Weizenbraunrost, *Puccinia triticea* (*Aec. O.*).
- VI. Trespennrost, *Puccinia bromina* (*Aec. O.*).
- VII. Queckenrost, *Puccinia agropyri* (*Aec. O.*).
- VIII. *Puccinia holcina* (*Aec. O.*).
- IX. *Puccinia Triseti* (*Aec. O.*).
- X. Zwergrost, *Puccinia simplex* auf *Hordeum vulgare*, in Deutschland noch eine oder vielleicht mehrere Formen von Kronenrosten.
- XI. *Puccinia coronifera* (*Aec. Catharticae*) mit den spezialisierten Formen: 1) *Avenae*, 2) *Alopecuri*, 3) *Festucae*, in Deutschland noch 4) *Lolii* und *Glyceriae*.
- XII. *Puccinia coronata* (*Aec. Frangulae*) mit den spezialisierten Formen: 1) *Calamagrostis* (auf *C. arundinacea* und *lanceolata*), 2) *Agrostis*, in Deutschland noch 3) *Phalaridis* und 4) *Agropyri*.
- XIII. *Puccinia* sp. mit den spezialisierten Formen: 1) *Epigeii* (auf *Calamagrostis Epigeios*), 2) *Melicae* (auf *Melica nutans*).

Ludwig (Greiz).

Eriksson, J., Giftiges Süßgras, *Glyceria spectabilis*, von *Ustilago longissima* befallen. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1900. p. 15.)

In Schweden wurden mehrere Vergiftungsfälle bei Kühen konstatiert, die darauf zurückzuführen sind, daß das als Futter benutzte Süßgras, *Glyceria spectabilis*, von *Ustilago longissima* befallen war. Der Pilz ist nur in frischem Zustande giftig, im Heu verursacht er keinerlei Wirkung. Lindau (Berlin).

Beck von Mannagetta, G. R., Ueber eine neue Krankheit unserer Radieschen. (Lotos. 1899. p. 281.)

Im Mai wurden an Radieschenwurzeln große rußige Flecken beobachtet, in denen ein unseptiertes Mycel saß, das büschelig zusammenstehende Haustorien in die Parenchymzellen entsandte.

Im Juni wurden häufig Haustorien beobachtet, deren Zweige sich sporenlähnlich abrundeten, ohne aber abzufallen. Endlich wurden nach erfolgreicher Infektion gesunder Radieschen auch Oosporen gefunden. Danach wurde der Pilz als *Peronospora parasitica* Tul. bestimmt. Im Herbst erst kamen die Konidienträger zur Beobachtung, und zwar an infizierten Radieschen, die feucht unter einer Glocke gehalten wurden.

Dieselbe Krankheit wurde auch an Kohlrüben beobachtet. Infektionsversuche von ihnen auf Radieschen und umgekehrt gelangen stets.

Bemerkenswert ist, daß die Radieschenwurzeln auch von *Cystopus candidus* befallen werden, der sonst nur an den oberirdischen Organen sich findet.

Lindau (Berlin).

Kudelka, F., Ueber die zweckmäßigste Art der Anwendung künstlicher Düngemittel zu Zuckerrüben und ihre Beziehung zum Wurzelbrand. (Blätter für Zuckerrübenbau. Jahrg. VII. No. 8.)

Verf. steht auf dem Standpunkte, daß eine Bekämpfung des Wurzelbrandes der Rüben durch Beizen der Samen sich in die Praxis nicht genügend einführen läßt, daß man aber andererseits durch eine Kräftigung der Keimpflanzen dem Uebel sehr wohl genügend steuern könne.

Als Düngemittel ist seit längerer Zeit bei Rüben das Superphosphat in Gebrauch, da im wesentlichen eine Phosphorsäurezufuhr nötig ist. Bis jetzt hat man aber dieses Mittel breitwürfig ausgestreut. K. empfiehlt, das Superphosphat in Reihensaat anzuwenden und weist durch Versuche nach, daß hierdurch sowohl ein größerer Rübenantrag als ein höherer Zuckergehalt erzielt werden kann. Die Wirkung auf den Wurzelbrand der Rüben war eine derartige, daß, um ein Beispiel herauszugreifen, bei dem ungedüngten Teile des Feldes 34 Proz., bei Breitsaat von Superphosphat 19 Proz., bei Reihensaat desselben 3 Proz., bei Stalldünger 3 Proz., bei Stalldünger und Superphosphat 0 Proz. der Pflanzen erkrankten.

Sollten sich diese Resultate auch unter anderen Verhältnissen bestätigen, so wäre diese Art der Düngung unzweifelhaft das beste Mittel gegen den Wurzelbrand, da die aufgewandten Mehrkosten reichlich durch die größere und zuckerreichere Gesamternte aufgewogen werden.

Appel (Charlottenburg).

Henriquet, P., Quelques parasites du Chêne-Liège. (Revue des eaux et forêts. 1899. p. 83—84.)

Auf den Blättern der Korkeiche in Algier wurden braune, unregelmäßige Flecke durch *Botrytis suberis* nov. spec. und schwarze, runde oder ovale Flecke durch *Trichosporium suberis* nov. spec. hervorgerufen. Ferner wurden auf den Blättern *Uredo ilicis*, *Phytoptus ilicis* und auf den Zweigen die schwarzen Perithezien eines Pilzes, welcher zwischen den Gattungen *Botryosphaeria* und *Melogramma* steht, beobachtet.

Brick (Hamburg).

Gontière, J. F., Sur quelques maladies du tabac. (Journ. d'agriculture pratique. Année LXIV. T. I. No. 16.)

Zunächst teilt Verf. einige Erfahrungen über *Phelipea ramosa*, die besonders im südlichen Frankreich großen Schaden bringt, mit. Nach seinen Beobachtungen (die Ref. nach seinen Erfahrungen mit derselben Pflanze auf Meerrettig nur bestätigen kann), ist ein Ausreißen der Orobanche durchaus nicht genügend, da die Samen zum Teil jahrelang überliegen und auch regenerationsfähige Teile der Pflanzen leicht im Boden bleiben. Es ist zunächst ein Fruchtwechsel einzuführen und außerdem noch Sorge zu tragen, daß etwa auf den neuen Feldern erscheinende Orobanchen nicht zur Fruktifikation gelangen. Bei sehr starkem Auftreten ist es nötig, solche Felder bis zu 10 Jahren nicht mit Tabak zu bebauen.

Die zweite Hälfte der Mitteilung beschäftigt sich mit der Mosaikkrankheit. Nach einer allgemeinen, nichts Neues bringenden Beschreibung empfiehlt Verf. zur Bekämpfung das Verlegen der Saatbeete auf neues Land; falls stehende Mistbeete in Gebrauch sind, Erneuern der Erde und Tränken der Holzteile mit einer starken Kupfersulfatlösung und endlich ein Beizen aller auszusäenden Samen mit einer $\frac{1}{2}$ -proz. Kupfersulfatlösung mit nachherigem Abwaschen.

Äppel (Charlottenburg).

Doerstling, P., Auftreten von *Aphis* an Wurzeln von Zuckerrüben. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1900. p. 21.)

Bei La Grande-Oregon in Nordamerika trat eine Krankheit der Zuckerrüben auf, als deren Ursache *Aphiden* erkannt wurden. Die Rüben waren spät nachgesät worden, da die im Frühjahr gepflanzten durch Frost gelitten hatten. Außerdem war durch zwei lange Trockenperioden die Zähigkeit der Pflanzen herabgesetzt. Die *Aphiden* fanden sich an den Saugwurzeln, die zerstört wurden. Später traten sie auch an der Blattunterseite auf. 30—40 Proz. aller Rüben gingen ein. Durch Bildung freier Säure und Gehalt an Glukose wurde auch der Zuckergehalt erheblich verringert und ein weiterer Schaden veranlaßt.

Lindau (Berlin).

Eckstein, K., Infektionsversuche und sonstige biologische Beobachtungen an Nonnenraupen. (Ztschr. f. Forst- u. Jagdwesen. Jahrg. XXXII. 1900. p. 262—266.)

Zu Studien über die Infektionskrankheiten der Nonnenraupen (Wipfelkrankheit, Schlauffsucht etc.) erzog E. junge Raupen aus Eiern, die mangels passender Nahrung mit Weymouthskiefernadeln gefüttert wurden. Um ihnen das Nagen zu erleichtern, wurde die Oberhaut der Nadeln angeschält. Beobachtungen über Schädigungen der Räumchen durch Benässen führten zu der Vermutung, daß manchmal ein kräftiger Frühlingsregen hinreichen wird, um das plötzliche Verschwinden, d. h. Massensterben junger Nonnenraupen im Freien zu veranlassen. Weiter kam Verf. zur Bestätigung des schon von mehreren Seiten gewonnenen Ergebnisses, daß die verschiedenen aus kranken und eingegangenen Raupen erhaltenen „Lymphen“ und Bakterienkulturen sämtlich nicht imstande sind,

eine Infektion mit Schlaffsucht (rect. Wipfelkrankheit) hervorzurufen. Dagegen war dies Ziel leicht zu erreichen, wenn man Nonnenraupen entweder durch Stichimpfung oder gelegentlich der Futteraufnahme mit Reinkulturen infizierte, die aus an Pebrine erkrankten Seidenraupen hergestellt wurden. Einfaches Zusammenbringen toter Seidenraupen mit Nonnen kann die Krankheit nur dann erzeugen, wenn jene zweite Infektionsgelegenheit besteht. Endlich teilt Verf. mit, daß die bekannten auch von ihm gefundenen „Körperchen“ mit unumstößlicher Sicherheit die identischen Erreger der Pebrine der Seidenraupen und der Schlaffsucht der Nonnenraupen seien.

Arnold Jacobi (Berlin).

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Fleischer, E., Ueber Wasch- und Spritzmittel zur Bekämpfung der Blattläuse, Blutläuse und ähnlicher Pflanzenschädlinge. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1900. p. 65.)

Um die Brauchbarkeit von Spritzmitteln zur Vertilgung kleiner Pflanzenschädlinge zu erproben, verfuhr Verf. in der Weise, daß er die Einwirkung auf einzelne Blattläuse, auf Kolonien derselben und auf die Nährpflanzen prüfte. Zu diesem Behufe tauchte er die Läuse in einen Tropfen der Flüssigkeit und beobachtete, in welcher Zeit sie abstarben. Bei den Kolonien kam es auch darauf an, die Durchdringungskraft des Mittels zu erproben. Endlich wurden von den Pflanzen Zweige in die Flüssigkeit getaucht und dann ihr Verhalten bei mehrtägigem Stehen in Wasser beobachtet.

Geprüft wurden auf diese Weise 5 Mittel, über deren Wert sich der Verf. am Schlusse äußert. Das „Halali“ genügt allen Bedingungen, aber sein Preis ist hoch und bei zarten Pflanzen ist Vorsicht notwendig. „Eichhorn's Insektenseife“ ist für Blutlausbekämpfung zu empfehlen, aber zum Spritzen ist sie weniger geeignet, weil eine feine Verteilung im kalten Zustande kaum möglich ist; sie ist indessen billig. Dagegen rechtfertigen Petroleumemulsion, Verminol und Zacherlinseife den hohen Preis nicht, denn ihre Verwendung ist nicht erfolgreicher als die der anderen Mittel.

Als beste und billigste Mittel empfiehlt Verf. das Sapokarbol I der chemischen Fabrik Eisenbüttel in Braunschweig und das Lysol von Schülke & Mayr in Hamburg.

Lindau (Berlin).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. ARTHUR WÜRZBURG,
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Systematik, Morphologie und Biologie.

- Berlese, A.**, Gli acari agrari. (Riv. di patol. vegetale. Vol. VIII. 1899/1900. ²No. 7/12. p. 227—297.)
- Bloomfield, E. N.**, Notes on phytophagous hymenoptera 1800—1900. (Entomol. Record. 1901. No. 1. p. 18—20.)
- Briosi, G.**, Rassegna crittogamica pei mesi di agosto a dicembre 1900. (Bollett. di notiz. agrar. 1901. No. 8. p. 412—420.)
- Delacroix, G.**, Sur une forme conidienne du champignon du black-rot (Guignardia Bidwellii [Ellis] Viala et Ravaz). (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXII. 1901. No. 13. p. 863—864.)
- Dietsch, P.**, Ueber die Aufspeicherung von Wasser in den Sporenmembranen der Rostpilze. (Naturwissensch. Rundschau. 1901. No. 4. p. 41—44.)
- Harshberger, J. W.**, Observations upon the feeding plasmodia of Fuligo septica. (Botan. Gaz. 1901. No. 3. p. 198—203.)
- Hay, G. U.**, Preliminary list of New Brunswick fungi. (Bulet. of the natural hist. soc. of New Brunswick. Vol. IV. 1901. Part 4. p. 341—344.)
- Tassi, Fl.**, Nova genera fungorum. (Bulet. d. laborat. ed orto botan. Siena. Vol. III. 1900. Fasc. 3/4. p. 89—92.)
- Turner, G.**, Two new species of phytophagous hymenoptera belonging to the families Oryssidae and Tenthredinidae with notes on other sawflies. (Proceed. of the Linnean soc. of N. S. Wales. Vol. XXV. 1900. Part 3. p. 514—518.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Nahrungs- und Genußmittel, Gebrauchsgegenstände.

Wein, Weinbereitung.

- Mathieu, L.**, Expériences de stérilisation des vins à Beaune. (Moniteur vinicole. 1901. No. 30. p. 118.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Harmlose Bakterien und Parasiten.

- Life, A. C.**, The tuber-like rootlets of *Cycas revoluta*. (Botan. Gaz. 1901. No. 4. p. 265—271.)

Krankheitsserregende Bakterien und Parasiten.

- Auftreten, das des Borkenkäfers in den Wäldungen Graubündens im Jahre 1900. (Schweiz. Ztschr. f. Forstwesen. 1901. No. 4. p. 97—103.)
- Beck, E.**, Ueber einige wirtschaftlich bedeutungsvolle pflanzliche Parasiten unserer forstlichen und landwirtschaftlichen Kulturgewächse. (Pharm. Centralhalle. 1901. No. 15, 16. p. 225—234, 237—243.)
- Berlese, A.**, Istruzioni per combattere le tignuole della vite. (Bollett. di notiz. agrar. 1901. No. 9. p. 463—468.)
- Cavassa, D.**, La lotta contro le arvicole nel Bolognese. (Annali e ragguagli dell'uffic. provinc. per l'agricolt. etc. di Bologna. 1899/1900. Anno 7/29.)
- Cockerell, T. D. A.**, A new plant-louse injuring strawberry plants in Arizona. (Canad. entomol. 1901. No. 4. p. 101—106.)
- Cuboni, G.**, Attività della R. Stazione di patologia vegetale di Roma durante l'anno 1900. (Bollett. di notiz. agrar. 1901. No. 8. p. 404—412.)
- Dienhart, J. P.**, Was ist von der Verwertung der Mottenfanglampen zur Bekämpfung des Heu- und Sauerwurmes zu halten? (Weinbau u. Weinhandel. 1901. No. 14. p. 155.)
- Duggar, B. M. and Stewart, F. C.**, The sterile fungus *Rhizoctonia* as a cause of plant diseases in America. (Cornell Univers. agricult. experim. stat. Botan. divis. Bulet. No. 186. 1901. Ithaca, N. Y. p. 51—76.)

- Hennings, P.**, Ueber einen schädlichen Orchideenpilz, *Nectria bulbicola* P. Henn. n. sp. (Notizbl. d. kgl. botan. Gartens u. Museums zu Berlin. Bd. III. 1901. No. 25. p. 97—99.)
- Hollrung, M.**, Inwieweit ist eine Verseuchung der Rübenfelder mit Nematoden durch die Rückstände des Rübenbaues und der Rübenverarbeitung möglich? (Blätter f. Zuckerrübenbau. 1901. No. 8. p. 114—116.)
- Houard, C.**, Quelques mots sur les zoocécidies de l'*Artemisia herba-alba* Asso. (Bullet. de la soc. entomol. de France. 1901. No. 4. p. 92—93.)
- Jacobi, A.**, Der Schwammspinner und seine Bekämpfung. (Gartenflora. 1901. Heft 6. p. 154—157.)
- Kellogg, V. L.**, The San Jose scale in Japan. (Science. 1901. No. 323. p. 383—385.)
- Kieffer, J. J.**, Monographie des cécidomyides d'Europe et d'Algérie. (Annal. de la soc. entomol. de France 1900. II. Trimestre. 1901. Févr. p. 181—384.)
- Kusano, S.**, On the parasitism of *Buckleya quadrialba* B. et H. (Santalaceae). [Preliminary note.] (Botan. magaz., Tokyo 1901. No. 189. p. 42—46.)
- Laborde, J.**, *Cochylis* et *Eudemis*. (Rev. de viticult. 1901. No. 382. p. 397—402.)
- Lambillion, L. J.**, Rapport sur les ravages causés par la *Porthesia chrysoorrhoea* L. dans les arrondissements de Namur et de Dinant. (Bullet. de l'agricult. Bruxelles. 1901. T. XVII. Livr. 1. p. 42—45.)
- Laurent, E.**, De l'influence du sol sur la dispersion du gui et de la cuscute en Belgique. (Bullet. de l'agricult. Bruxelles. 1900. T. XVI. Livr. 6. p. 457—510.)
- Lüstner, G.**, Ueber Rebenschildläuse. (Mitteil. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. 1901. No. 4. p. 56—59.)
- Marchal, E.**, Rapport sur les maladies cryptogamiques étudiée au laboratoire de botanique de l'institut agricole de Gembloux. (Bullet. de l'agricult. Bruxelles. 1901. T. XVII. Livr. 1. p. 4—18.)
- Seemann, H.**, *Neuronia popularis* als Schädiger des Maises. (Societ. entomol. 1900. No. 16. p. 122—123.)
- Smith, E. F.**, Wakker's hyacinth germ, *Pseudomonas hyacinthi* (Wakker). (U. S. Departm. of agricult. Divis. of veget. physiol. and pathol. Bullet. No. 26.) gr. 8°. 45 p. Washington 1901.
- Sorauer, F.**, Der Schorf der Maiblume. (Gartenflora. 1901. Heft 7. p. 172—174.)
- Staes, G.**, Een middel tegen de „knolvoeten“ der kruisbloemigen. (Tijdschr. over plantenziekten. 1900. Aflev. 5/6. p. 139—144.)

Inhalt.

Originalmittellungen.

- Chick, Harriette**, Sterilisierung von Milch durch Wasserstoffsuperoxyd. (Orig.), p. 705.
- Gottheil, O.**, Botanische Beschreibung einiger Bodenbakterien. (Orig.) [Schluß], p. 717.

Referate.

- Beck von Mannagetta, G. B.**, Ueber eine neue Krankheit unserer Radieschen, p. 731.
- Doerstling, P.**, Auftreten von *Aphis* an Wurzeln von Zuckerrüben, p. 733.
- Eckstein, K.**, Infektionsversuche und sonstige biologische Beobachtungen an Nonnenraupen, p. 733.
- Eriksson, Jacob**, Tabellarische Uebersicht der in Schweden auftretenden Getreiderostpilzformen, p. 730.

- Eriksson, J.**, Giftiges Süßgras, *Glyceria spectabilis*, von *Ustilago longissima* befallen, p. 731.
- Gontière, J. F.**, Sur quelques maladies du tabac, p. 733.
- Henriquet, P.**, Quelques parasites du Chêne-Liège, p. 732.
- Kudelka, F.**, Ueber die zweckmäßigste Art der Anwendung künstlicher Düngemittel zu Zuckerrüben und ihre Beziehung zum Wurzelbrand, p. 772.

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

- Fleischer, E.**, Ueber Wasch- und Spritzmittel zur Bekämpfung der Blattläuse, Blutläuse und ähnlicher Pflanzenschädlinge, p. 734.

Neue Litteratur, p. 735.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Prof. Dr. J. Behrens in Weinsberg i. W.,
Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Dr. v. Freudenreich in Bern, Privatdocent
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Dr. G. Harris Morris
in London, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädenswil, Dr. Erwin F. Smith in
Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr.,
Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel
und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Berlin
und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VII. Band.

Jena, den 15. Oktober 1901.

No. 21.

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

*Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die
Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung
der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.*

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Chemische Vorgänge in der abgetöteten Hefezelle.

Von B. und W. Albert.

Mit 1 Tafel.

Vor kurzem hat der Eine von uns ein Verfahren beschrieben ¹⁾,
nach welchem es gelingt, frische Hefe durch geeignete Behandlung
mit einem Gemenge von Alkohol und Aether in ein haltbares

1) Berichte der deutsch. chem. Ges. Bd. XXXIII. 1901. p. 3775.

Pulver überzuführen. Solche sterile Dauerhefe¹⁾ besitzt das spezifische Gärungsvermögen der lebenden Hefe noch in hohem Maße und enthält somit die Zymase²⁾ noch in unverändertem Zustande. Inzwischen konnte an anderer Stelle³⁾ auch über die medizinische Bedeutung der sterilen Dauerhefe berichtet werden. Das weitere Studium hat nun ergeben, daß solcher Dauerhefe noch andere, der lebenden Zelle zukommende Eigenschaften anhaften. Als die bemerkenswerteste Erscheinung neben der Erhaltung der Zymase konnte das gleichzeitige Vorhandensein kräftig wirkender proteolytischer Enzyme festgestellt werden. Auf diese Thatsache wurden wir durch eine Beobachtung hingewiesen, welche der Eine von uns schon früher⁴⁾ kurz erwähnt hat. Fertigt man nämlich von der mit Zuckerlösung angesetzten Dauerhefe von Zeit zu Zeit Präparate mit Gram-Färbung⁵⁾ (und Safraninnachfärbung) an, so ergibt sich eine Reihe der verschiedensten mikroskopischen Bilder, von welchen wir vier der typischsten auf der beigegebenen Tafel in Vergrößerung wiedergeben. Fig. 1 zeigt ein Präparat, welches mit Dauerhefe vor Beginn der Gärung hergestellt wurde. Die Zellen sind gleichmäßig tiefblauschwarz gefärbt und zeigen einen stahlartigen Glanz; eine rot gefärbte Zelle, welche sich dazwischen befindet, war offenbar schon vor der Behandlung mit Alkohol-Aether abgestorben. Dasselbe Bild giebt auch lebende Hefe, auf diese Weise gefärbt. Fig. 2 zeigt das mikroskopische Bild einer Dauerhefe, welche 5 Stunden in 20-proz. Rohrzuckerlösung suspendiert (Zimmertemperatur), kräftige Gärungserscheinungen in dieser hervorgerufen hatte. Es sind nur noch vereinzelte tiefblau gefärbte Zellen vorhanden, die übrigen zeigen Blaufärbung in verschiedener Abstufung und haben das stahlgänzende Aussehen eingebüßt. Das Auffallendste dabei ist jedoch das Auftreten von unzählig vielen, ungefähr gleich großen, noch stark gefärbten Körnchen im Inneren der Zelle. Meist beginnt zuerst der Rand der Zelle ein zackiges Aussehen zu erhalten, und nur bei sehr scharfem Einstellen des Mikroskopes sieht man, daß die ganze Zelle mit tiefblau gefärbten Körnchen erfüllt ist. Allmählich treten die Körnchen deutlicher hervor, indem die Zwischenräume zwischen den einzelnen sichtbar werden. Gleichzeitig bemerkt man hellblau gefärbte Zellen, welche offenbar das Stadium, in welchem die dunkelblauen Körnchen auftreten, gerade überstanden haben; im Inneren derselben zeigt sich

1) Das Präparat ist inzwischen Handelsprodukt geworden und kann durch die Preßhefefabrik von A. Schröder in München, Landwehrstraße 45, in tadelloser Beschaffenheit bezogen werden.

2) Wir lassen uns durch die einleitenden Ausführungen der Herren D. Iwanowski und S. Obrastzow (dieses Centralblatt. II. Abt. 1901. p. 305 u. 306) nicht abhalten, auch fernerhin von der Zymase zu sprechen, selbst auf die Gefahr hin, „längst widerlegte Hypothesen aufzuwärmen“. Wir sind gerade durch die neueren Versuche mehr denn je von der Enzymnatur der Zymase überzeugt.

3) W. Albert, Sterile Dauerhefe und ihre Verwendung in der Gynäkologie. (Centralbl. f. Gynäkol. 1901. No. 17. p. 417 ff.)

4) Ebenda. p. 419.

5) Nach der Vorschrift in K. L. Lehmann und R. Neumann, Bakteriologische Diagnostik. p. 455. München 1899.

deutlich ein meist excentrisch liegender, dunkler gefärbter Kern von runder bis ovaler Form. Fig. 4 schließlich stellt ein Präparat dar, welches nach beendigter Gärung (ca. 3 Tage) angefertigt wurde und welches direkt mit wässriger Methylenblaulösung (1:5000) gefärbt ist. Die Hefe läßt sich jetzt nach Gram nicht mehr deutlich färben, man erhält Präparate, in welchen nur noch die rot gefärbten Kerne sichtbar sind, so daß man im ersten Augenblicke den Eindruck gewinnen kann, als betrachte man rot gefärbte Hefezellen bei sehr schwacher Vergrößerung. Jedoch schon der weite Abstand der vermeintlichen Zellen voneinander deutet darauf hin, daß sich die leere ungefärbte Zellhülle noch dazwischen befinden muß. Bei der direkten Methylenblaufärbung hingegen ist die Zellmembran, welche den dunkler gefärbten Kern umgibt, noch scharf zu sehen.

Worauf beruhen nun diese Veränderungen der Hefezelle? Daß sie mit der alkoholischen Gärung an sich direkt nichts zu thun haben, konnten wir leicht dadurch feststellen, daß dieselben Erscheinungen und zwar noch viel rascher nacheinander auftreten, wenn man Dauerhefe statt in Zuckerlösung in dest. Wasser suspendiert und bei höherer Temperatur (40—45° C) im Thermostaten aufstellt. Antiseptica, wie Toluol, Thymol und Chloroform, in den gebräuchlichen Mengen zugesetzt, äußern keinen Einfluß, hingegen Zusätze von Formaldehyd oder Sublimat verhindern das Eintreten der Erscheinungen völlig. Es lag daher nahe, an die Wirkung der in der Hefe befindlichen proteolytischen Enzyme zu denken, deren kräftig eiweißspaltende Eigenschaften neuerdings durch die Arbeiten von Hahn und Geret¹⁾ und Fr. Kutscher²⁾ genauer erforscht wurden. In der That lassen sich sichere Anhaltspunkte dafür gewinnen, daß das Endotrypsin (Hahn und Geret) in der Dauerhefe mit ungeschwächter Wirksamkeit erhalten ist.

Suspendiert man eine größere Menge Dauerhefe (100 g) in Wasser (200 g) und läßt nach Toluolzusatz bei 40—45° C stehen, so läßt sich schon nach 1 Stunde in dem vom Hefenschlamm befreiten klaren Filtrate Eiweiß mittels Millon's Reagens nachweisen. Nach 2 Stunden befanden sich auch nachweisbare Mengen koagulierbares Eiweiß darin, während mit Millon's Reagens starke Fällung und Rotfärbung eintritt. Man kann nun von Stunde zu Stunde verfolgen, wie die Menge gelöster Eiweißkörper (sowohl der koagulierbaren, als auch der schon hydrolisierten) schnell zunimmt. Nach ca. 15 Stunden läßt sich im Filtrate eine beginnende Verringerung des Koagulates feststellen, welche schnell weiter fortschreitet, und nach 48 Stunden ist keine Spur koagulierbaren Eiweißes mehr vorhanden, während die Reaktion mit Millon's Reagens an Intensität noch stets zunimmt. Es sind somit die proteolytischen Enzyme mit den Eiweißkörpern aus der Zelle herausgewandert und wirken nun außerhalb derselben weiter. Um

1) Zeitschrift f. Biologie. Bd. XL. p. 117 ff.

2) Hoppe-Seyler's Zeitschrift f. physiologische Chemie. Bd. XXXII. p. 59 ff.

dies mit Sicherheit festzustellen, wurde nach 48 Stunden eine größere Menge der Hefesuspension durch ein Berkefeld-Filter filtriert und das so gewonnene klare und zellenfreie Filtrat wieder bei 40—45° C längere Zeit stehen gelassen. Es konnten nun dieselben Veränderungen bemerkt werden, wie sie Hahn und Geret für den Hefepreßsaft beschrieben haben. Auch die Albumosen verschwinden schließlich völlig, die Flüssigkeit nimmt eine dunkelrotbraune Farbe an und hinterläßt beim Eindampfen auf dem Wasserbade einen Krystallbrei von Aminokörpern (Leucin, Tyrosin u. a.).

Es besteht nun die Vermutung, daß ein direkter Zusammenhang zwischen der Wirkung der proteolytischen Enzyme und den vorerwähnten mikroskopisch wahrnehmbaren Veränderungen, welche die Hefezellen erleiden, besteht. Offenbar sind durch die Tötung der Hefe mittels Alkoholäther die Eiweißkörper im Inneren der Zelle in ähnlichem Zustande vorhanden, wie dies bei der Fällung des Hefepreßsaftes mit denselben Agentien früher beobachtet wurde¹⁾. Durch Eindringen von Wasser in die Hefezelle wird nun zunächst der leichter lösliche Teil der Eiweißkörper in Lösung gebracht, welche ohne weiteres durch die Membran der toten Zelle bzw. durch den gegenüber dem lebenden Zustande stark veränderten Protoplasmaschlauche zu diffundieren vermögen, wie aus dem Auftreten koagulierbarer Eiweißkörper im Filtrate geschlossen werden kann. Das nächste Stadium wird durch die beginnende Wirkung der Verdauungsenzyme hervorgerufen. Es werden jetzt die vorher nicht diffusiblen Eiweißkörper (wozu voraussichtlich, wie später noch eingehender erörtert wird, auch die Zymase gehört) soweit hydrolysiert, daß sie ebenfalls die Zellhülle zu passieren vermögen. Die nun im Zellinnern sichtbar werdenden Körnchen müssen aller Wahrscheinlichkeit nach schon vorher dagewesen sein, wurden aber im erst erhaltenen mikroskopischen Bilde von den stark gefärbten Eiweißkörpern verdeckt. Jedenfalls sind sie schwerer verdaulich oder zum mindesten schwerer löslich, als die übrigen Zellinhaltsstoffe, denn sie verschwinden erst sehr allmählich, wenn auch schließlich vollständig aus der Zelle. Diese Körnchen erinnern sehr an die von Hieronymus²⁾ in der Hefezelle entdeckten Protoplasmakörnchen von nukleäartiger Natur, wofür auch ihre größere Widerstandsfähigkeit gegenüber den proteolytischen Enzymen spricht. Hingegen konnten wir niemals die von Hieronymus beschriebene und auch in Abbildung wiedergegebene reihen- und fadenförmige Anordnung der Körnchen beobachten, sondern fanden, daß sie anfangs die ganze Zelle gleichmäßig erfüllen. Wie verhält es sich nun mit dem stets noch in der Zelle verbleibenden, dunkler gefärbten Kerne? Ist es der Zellkern selbst, über dessen Existenz in der Hefezelle noch vielfach widersprechende Ansichten bestehen? Bei der großen Zahl von Präparaten, welche wir in allen Stadien hergestellt haben, gelang es nicht, auch nur eine

1) Ber. d. dtsh. chem. Ges. Bd. XXXIII. p. 266 u. 971.

2) Ber. d. dtsh. botan. Ges. Bd. XI. p. 176 ff.

einzigste Zelle zu finden, in welcher nicht schließlich auf das deutlichste jener dunkler gefärbte Körper von stets ähnlicher Form und Größe zu sehen gewesen wäre.

Die Widerstandsfähigkeit dieses Körpers gegen die kräftig wirkenden proteolytischen Enzyme läßt vermuten, daß er sich seiner chemischen Zusammensetzung nach wesentlich von dem übrigen Protoplasma der Hefezelle unterscheidet. Es erscheint uns nicht ausgeschlossen, dies noch nachträglich durch die Analyse solch entleerter Zellhüllen feststellen zu können.

Die hier beschriebene kombinierte Methode der Tötung von Hefe mittels Alkoholäther und Färbung nach Gram ermöglicht, wie wir glauben, zum ersten Male, chemische Vorgänge, welche sich unter dem Ausschlusse der Lebensthätigkeit im Inneren der Zelle vollziehen, genauer zu verfolgen. Die Thatsache, daß es gelingt, durch die Alkoholätherbehandlung die Hefezelle mit ihren spezifischen Eigenschaften zu erhalten, eröffnet die Aussicht, dies Verfahren auch zur Tötung anderer Mikroorganismen unter Erhaltung ihrer spezifischen Inhaltstoffe zu verwenden.

Im Anschlusse hieran sei noch kurz auf einige andere Eigenschaften der Dauerhefe hingewiesen, welche diese mit lebender Hefe gemeinsam hat. Bekanntlich vermag lebende Hefe unter gewissen Bedingungen in Abwesenheit von Zucker alkoholische Gärung hervorzurufen, eine Erscheinung, welche man auch bei dem Buchner'schen Hefepreßsaft beobachtete und als Selbstgärung¹⁾ bezeichnet hat.

Die Selbstgärung bei der Dauerhefe tritt auf, wenn man das Hefepulver in Wasser suspendiert, ca. $\frac{1}{2}$ Stunde bei 35° C (bei Zimmertemperatur erst nach 1 Stunde) stehen läßt. Es beginnt dann eine regelmäßige und lebhaft entwickelte von Kohlendioxyd, welche mehrere Stunden anhält. Ebenso wie bei lebender Hefe²⁾ und bei Hefepreßsaft³⁾ läßt sich auch bei Dauerhefe ein Zusammenhang zwischen Glykogen und Selbstgärung erkennen. Während zu Beginn sich stets sehr viele glykogenhaltige Zellen nachweisen lassen (Jodreaktion), nimmt deren Zahl im Verlaufe der Selbstgärung rasch ab. Der Vorgang der Glykogenvergärung vollzieht sich im Innern der Zelle, welche somit neben der Zymase auch noch ein diastatisches, Glykogen hydrolysierendes Enzym in wirksamer Form enthält. Glykogen vermag aber ebensowenig wie das diastatische Enzym durch die Zellwand der Dauerhefe zu diffundieren, denn es läßt sich weder in Lösung Glykogen nachweisen noch wird in Lösung zugefügtes Glykogen vergoren, wie ein besonderer Versuch zeigte. Bei dieser Gelegenheit konnte auch mit

1) Warum Fr. Kutscher (l. c.) auch die durch die proteolytischen Enzyme veranlaßten Vorgänge unter dem Titel „Selbstgärung“ beschrieben hat, ist uns unverständlich. Es ist zweifellos richtiger, hierfür die schon von Schützenberger vorgeschlagene Bezeichnung „Selbstverdauung oder Autodigestion“ zu wählen, deren sich auch Hahn und Geret (l. c.) bedient haben.

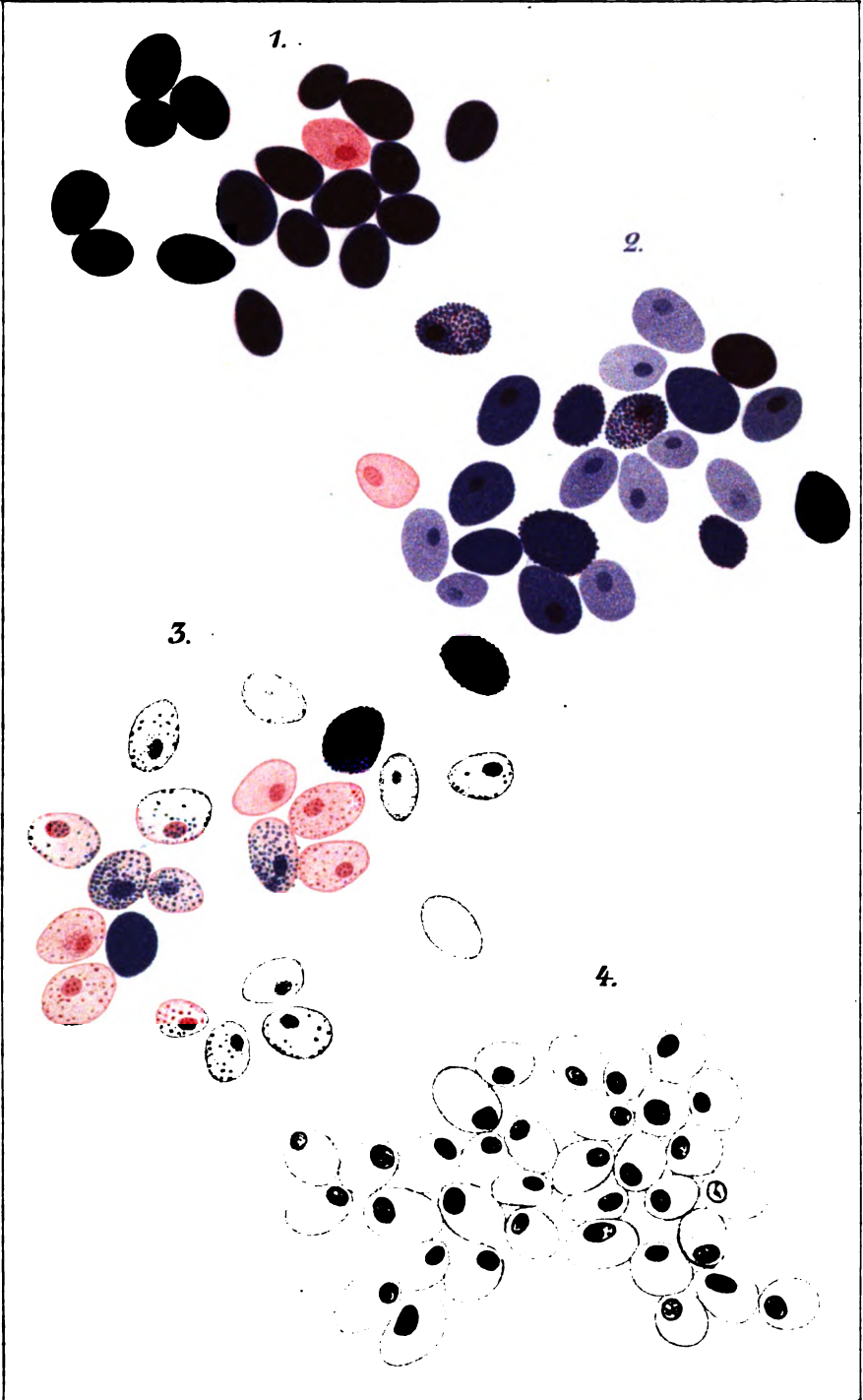
2) Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. VI. 1900. p. 517 u. 545.

3) Ber. d. dtsh. chem. Ges. Bd. XXXI. p. 214 u. 1091; ferner Bd. XXXIII. p. 3313.

Sicherheit nachgewiesen werden, daß die Zymase nicht diffusibel ist, somit auch aus getöteter Hefe ohne Zerstörung der Zellwand nicht extrahiert werden kann. Zu diesem Zwecke wurde eine größere Menge Dauerhefe im Verhältnis von 1 : 2 mit Wasser bei Zimmertemperatur digeriert. In Zeiträumen von je 1 Stunde wurde ein Teil der Suspension (20 ccm) direkt mit Rohrzucker (4 g) versetzt, ein gleicher Teil durch Filtrieren mittels gewöhnlichem Filtrierpapier von dem Hefeschlamme getrennt, diesem ebenfalls Zucker zugefügt und beide bei 35° C längere Zeit im U-Röhrchen beobachtet. Die Versuche von Stunde 1—7 inkl. ergeben ungefähr dasselbe Resultat. In der Hefesuspension beginnt auf Zuckerzusatz fast momentan eine lebhafte Gärung, welche in wenigen Minuten den einen Schenkel des Röhrchens füllt, in dem klaren Filtrate hingegen ist keine Spur einer Gärwirkung zu bemerken. Von Stunde 8—16 inkl. beginnt die Gärkraft der Suspension nachzulassen, aber auch jetzt zeigen die Filtrate keine Spur einer Zymasewirkung, obwohl sie z. B. durch Hitze koagulierbares Eiweiß in nicht unerheblicher Menge aufweisen. Von Stunde 16—24 inkl. läßt sich eine weitere Abnahme der Gärkraft erkennen, gewöhnlich schon mit der 20. Stunde ist die Gärwirkung völlig erloschen, die Zymase durch die proteolytischen Enzyme zerstört. Der Gärungsvorgang vollzieht sich somit auch bei der Dauerhefe nur im Innern der Zelle, nachdem die Zuckerlösung hineindiffundiert ist. Die beschränkte Wirkungsdauer der Zymase ist nur auf die gleichzeitige Anwesenheit der proteolytischen Enzyme zurückzuführen. Sobald man eine Methode gefunden hat, beide zu trennen oder ein Mittel, die Wirkung der letzteren auszuschalten, wird man Produkte von weit höherer Gärkraft als bisher erhalten. Schließlich sei noch bemerkt, daß man meist schon nach 1 Stunde im klaren Filtrate der wässerigen Hefesuspension die Anwesenheit der bekanntlich sehr leicht diffusiblen Invertase in kräftig wirksamer Form nachweisen kann, obwohl sich mit Millon's Reagens nur Spuren von Eiweiß erkennen lassen. Es erscheint demnach nicht ausgeschlossen, daß die Dauerhefe ein vorzügliches Material zur Reingewinnung von Invertase bietet und sind dahingehende Versuche in Aussicht genommen.

Chemisches Laboratorium der landwirtschaftl. Hochschule zu Berlin.

Kgl. Frauenklinik zu Dresden.



Nachdruck verboten.

The ripening of cream.

By **H. W. Conn** and **W. M. Esten**,
Wesleyan University, Middletown Ct. U.S.A.

Object of experiments.

The object of the experiments here described has been to determine, so far as possible, the types of bacteria which produce the ripening of cream under the normal conditions of a Connecticut dairy. Experiments that have been carried on here and elsewhere in past years have been confined largely to separating from milk or cream certain species of bacteria, and then by inoculating pasteurized cream with pure cultures of the isolated organisms, to determine the influence that each species might have upon the cream if acting alone. These experiments have resulted in showing that different milk bacteria vary decidedly in their influence upon the character of the butter. Hitherto no careful experiments have been described which give the exact bacteriological condition of normal cream before it is ripened, and the change in the bacteriological content that occurs during the ripening. Manifestly there is an advantage in determining the actual changes that occur in cream in normal ripening, and for practical purposes these results may be possibly of more value than experiments with pure cultures. The determination of the actual changes in normal ripening may have a value in at least two directions. First: it may settle the question over which there has been some dispute, as to whether the acid organisms alone are concerned in cream ripening, or whether the non-acid species may contribute to producing good butter. Second; it may result in pointing out a more satisfactory method of obtaining artificial cultures for cream ripening, which shall produce results more in harmony with those desired, than are obtained by the use of any culture now employed by dairymen.

Probably the reason that such experiments have not been hitherto undertaken lies in the extreme difficulty in carrying them out with any degree of satisfaction. It is exceedingly difficult to determine the types of bacteria in a culture containing so many millions of organisms per cc. as ordinary cream. The work involved is excessive and the results obtained seem to be rather small. The experiments which formed the basis of this article have occupied a considerable portion of the time for three years in the bacteriological work in our laboratory. But although they have extended over such a long period the results are not yet wholly satisfactory. The experiments particularly described below number perhaps a score, but this represents only a very small part of the total number. After having determined a method that was moderately satisfactory the further tests of cream have been made in large numbers, and they have yielded quite constant results, with

certain exceptions, which will be noted. The constancy of these results which have been obtained now in two score or more of similar experiments leads to the conclusion, that in spite of the necessary imperfection of the method, the results may be relied upon as expressing approximately the truth in regard to the problem studied. It should be added that the methods that are employed are being constantly improved and at the present time a greater accuracy is possible than in the earlier part of the work. The experiments are still going on and will be continued for some time longer, but it has been deemed wise to publish at this time the general result of the work of the last three years upon this subject.

The significance of this series of experiments may be understood from another consideration. As is well known, there have been put upon the markets in the last ten years quite a large number of pure cultures for cream ripening. Some of which have been used very widely. In the countries of northern Europe the use of such pure cultures has rapidly extended, and in Denmark it is practically universal. But although quite a number of such cultures have been used there is no one of them which produces results that are wholly satisfactory, at least to the American market. In general it may be stated that the cultures used produce a good quality of butter, but one with an extremely mild flavor and aroma. Such butter does not possess the character of the best type of butter ripened by natural conditions. It has been believed that the reason for this is that the normal butter flavors are not produced by any one type of bacteria, and that consequently the taste of butter ripened under natural conditions and, therefore, under the influence of a considerable variety of bacteria, is better than that produced under the influence of a pure culture, which is a single species. This has been, however, up to the present time wholly a matter of theory, for no one has studied the ripening of cream under normal conditions sufficiently to know whether or not there is thus a multiplication of a large number of types of bacteria, or whether in reality the ripening is produced by a single species. If this can be determined, manifestly it will contribute largely toward enabling bacteriologists to improve the types of cultures which can be used for artificial cream ripening.

Method of experiment.

The experiments upon which this paper is based were performed upon cream obtained from two creameries and four private dairies. Each creamery experiment has been performed as follows: A visit to the creamery was made at such time as made it possible to obtain a sample of the cream freshly brought into the creamery, and, therefore, just before it is set for ripening. The cream sample was put upon ice and carried to the laboratory at once and was plated as soon as possible, always within two hours of the time of collection. For a culture media was used a gelatin nutrient solution to which had been added three per cent of milk sugar,

inasmuch as it is found that the milk bacteria grow much better in a milk sugar medium. While the materials were being boiled there was added about 3 per cent dry litmus to the mixture, and this gave a moderately blue color to the gelatin solution when finally completed. The cream was diluted with sterilized water in a proportion which varied commonly from 100 000 to 250 000, though in very fresh cream smaller dilutions were used. The dilutions of course were very large and introduced certain errors, but the large dilutions were found necessary to make possible a satisfactory determination of the number of bacteria on the plates. Upon the next day a second visit was made to the creamery and a sample of the same cream ripened, was obtained just before the time of churning. This was in a similar way placed upon ice, brought to the laboratory and plated. In this way two series of plates were made from the same lot of cream, before and after ripening, and they could, therefore, within the necessary limits of such experiments, be directly compared with each other. After a little experimenting it was found that identical results could be obtained if a small amount of the unripened cream, about a pint, was brought to the laboratory and allowed to ripen in the laboratory at a temperature similar to, or slightly higher, than that in the creamery. Enough comparative experiments were made to show that the results of the ripening in the two cases was practically identical, and in the later experiments the ripening was always performed in the laboratory rather than in the creamery. Occasionally plates were made for comparison of ordinary gelatin without milk sugar or litmus, in order to determine whether any larger number of bacteria developed in the milk sugar gelatin than in ordinary gelatin. There was found to be very little difference between the two sets, although the cultures were larger and more robust in the milk sugar cultures.

Growth of bacteria during cream ripening.

The first point to be noticed was the actual number of bacteria found in the unripened and the ripened cream. In the following table are given the results of such experiments in cream from three different sources.

Number of bacteria in unripened and ripened cream.

Private dairy. Cream of three or four days gathering-placed in celler each day as collected. About 24 hours before churning it was brought from the celler and placed in a room near stove where it gradually warmed to about 20° C. No definite temperature of ripening. Samples were taken of cream when brought out to ripen, and a second sample when just ready to churn (Table I p. 746).

Small creamery. Cream from several farmers collected every day. Two days collection kept in a vat for about 12 hours after being warmed with steam at a temperature varying with conditions from 18—70°. Samples were taken just before ripening

Table I. Number of bacteria in ripened and unripened cream.

	Unripened cream	Ripened cream
Nov.	87 000 000	400 000 000
Jan. 10	12 000 000 ¹⁾	187 000 000
" 12	135 000 000	203 000 000
" 23	88 000 000	145 000 000
" 26	132 000 000	390 000 000

begins and placed at low temperature 45° or sometimes frozen, kept at this temperature about 12 hours before plating. Samples of ripened cream were plated at about time of churning.

Table II.

	Unripened cream	Ripened cream
Febr. 13	23 000 000	65 000 000
" 16	3 600 000	269 000 000
" 22	220 000 000	468 000 000
" 21	180 000 000	485 000 000
" 27	1 100 000	400 000 000
March 1	1 500 000	578 000 000
" 3	5 500 000	486 000 000
" 4	15 000 000	50 000 000

Cream from a large creamery. Cream from many dairies collected every two days. Reaches the creamery about 12 o'clock. Sample taken at once and placed on iceplated about 3 P. M. Mixed cream in creamery was warmed to about 165° and ripened about 12 to 24 hours.

Table III.

	Temperature, time of ripening	No. in unripened cream	Ripened	Remarks
Oct. 28		125 000 000	350 000 000	
May 22	18° for 20 hours	56 000 000	354 000 000	
" 26	18-20° " 20 "	60 000 000	320 000 000	good aroma
" 29	19° " 18 "	186 000 000	295 000 000	good aroma gas, inferior
July 2	16-20° " 16 "	214 000 000	380 000 000	good aroma
" 5	17-18° " 16 "	178 000 000	392 000 000	good aroma, thick slightly acid
" 12	21° " 17 "	67 000 000	190 000 000	good aroma, acid
" 16	21° " 16 "	134 000 000	243 000 000	
" 19	21° " 14 "	75 000 000	286 000 000	slow ripening
" 22		115 000 000	428 000 000	
Oct. 13	20° " 18 "	72 000 000	291 000 000	
" 30	16-18° " 28 "	107 000 000	199 000 000	
Nov. 3		39 000 000	234 000 000	
Dec. 8	16-20° " 29 "	4 000 000	238 000 000	
" 11	10-20° " 24 "	35 000 000	200 000 000	
Oct. 19	16-20° " 24 "	39 000 000	380 000 000	
" 26	16° " 21 "	115 000 000	297 000 000	ripe when collected
Nov. 2		158 000 000	355 000 000	

1) Too small to be calculated with the dilution used.

From this table it will be seen that the number of bacteria present in the unripened cream is very much more variable than that present in the ripened cream. In the unripened cream the number was sometimes as small as one million per cc., and in one case, so small that it could not be determined with the high dilutions which were used. At the other extreme we have one sample of unripened cream, collected in February, with 220 million bacteria per cc. In the other experiments the figures vary between these. The significance of this fact is, of course, simply that the cream as collected in the creamery, which we speak of as unripened, is really in different stages of ripening by the time it reaches the creamery. The samples with large numbers of bacteria are already well ripened, while those with small numbers have only begun their ripening process.

The number of bacteria in the ripened cream varies far less. The smallest number found was 50 millions; the largest number, 578 millions. While this difference is of course in actual numbers a large one, the proportionate difference is very much less than in the unripened cream. One example of ripened cream, for instance, contained more than two hundred and twenty as many bacteria as another sample, while the largest number in the ripened cream was only about eleven times as great as the smallest number.

The only conclusion of any significance from these facts is that the cream received by creameries is in various stages of ripening; and secondly, that the number of bacteria in ripened cream does not run much over 500 million per cc. In the well ripened cream this number is rarely surpassed.

Increase of acid producing organisms.

The next problem was to determine the proportion of species producing acid to those not producing acid. This determination is quite easy by the use of the litmus gelatin, in all cases where liquifying organisms are not present in great abundance. If the plates are allowed to grow for three or four days every acid producing organism is easily determined by its being surrounded by a red halo where the litmus has been changed by the acid. It is a very easy matter to go over the series of plates and thus determine the proportion of bacteria producing an acid reaction. The results of about twenty-five experiments in regard to this problem are shown in the following table. This table includes only results with cream from two creameries, the results with the cream from private dairies being given below (Table IV p. 748).

It will be noticed from this table that in all cases the percentage of acid organisms increased during the ripening. In the unripened cream the percentage of acid organisms is quite variable. The lowest percentage given in the tables is 66. From 66 per cent the proportion of acid organisms varies to as high as 100 per cent in a single specimen. In most cases the percentage of lactic organisms in the unripened cream is over 95 per cent, and not infrequently as high as 99 per cent.

Table IV. Percentage of acid organisms in cream from creameries.

Date	In unripened cream	In ripened cream
	Per cent	Per cent
Febr. 13	98,0	99,0
" 15	94,0	99,0
" 20	98,5	99,0
" 22	90,0	99,0
" 27	66,0	99,0
March 1	75,0	98,0
" 3	99,0 +	99,0 +
" 4	100	100
May 22	99,7	99,9
" 26	99,2	99,8
Large creamery		
May 29	96,0	99,6
June 2	99,2	99,8
" 5	99,5	100
" 12	99,5	99,9
" 16	98,5	99,2
" 19	98,0	99,7
" 22	97,7	99,6
Oct. 13	97,5	96,5
" 30	99,3	99,6
Nov. 3	99,3	99,6
Dec. 8	90,0	99,5
Oct. 19	74,0	98,5
" 26	95,0	97,7
Nov. 2	98,0	97,7

The ripened cream, on the other hand, shows uniformly a higher percentage of acid organisms. In each of the experiments (with one exception) given in the table the number of acid organisms is over 97 per cent; in all but four it is over 99 per cent, and in most cases it is closely approximating 100 per cent. Even in the experiments where the number of acid organisms in the unripened cream was lowest the number present in the ripened cream has risen to 98 and 99 per cent. This, of course, indicates that, in these experiments at all events, the ripening has consisted essentially in the growth of organisms producing some kind of acid at the expense of those giving an alkaline reaction or no reaction at all.

Species of bacteria.

We next made an attempt to determine more accurately the species of bacteria which are chiefly concerned in the normal ripening. This has been the most difficult part of the work and one in regard to which we have as yet the least satisfactory results. The difficulty of determining with any degree of accuracy the species of bacteria present in cream, when the total number mounts up into the hundreds of millions per cc. is very great. It can of course be accomplished only by the study of the gelatin colonies on gelatin plates and differentiating these as

well as possible. After long experimenting we found a possible to do this to a certain extent. When the plates are made in milk sugar-litmus gelatin we found that there are four types of acid colonies produced. One of these is that characteristic of the common *B. acidilactici* (No. 206 of our list described in a previous report)¹⁾ easily recognized from its being intensely acid, robust, growing under the surface of the gelatin but not on the surface and showing on its edge minute radiating projections. A second (No. 202 of our previous list) is an extremely minute colony, also growing under the surface of gelatin, commonly transparent and smooth and intensely acid. The third (No. 208 of our list) is *B. lactis aërogenes*, and is characterized by an extremely intense acidity, a very robust, large colony with a dense surface growth and frequently producing gas bubbles. These three are readily distinguishable. A fourth acid type we have been obliged to refer to as miscellaneous acids, for it consists of all colonies showing acid reaction but not having the type of one of the three mentioned. In our experiments, the colonies of this fourth class have been few in unripened cream, and almost never present in the ripened cream. Their numbers are so small that they have been commonly omitted in the following table. The acid bacteria of ripened cream, in other words, consist of a mixture of the three organisms referred to, No. 206, 202 and 208. So large a proportion do these three organisms form of the bacteria present in ripened cream that all others must be regarded as incidental.

While these three species have thus shown themselves very abundant and easy to differentiate we are by no means convinced that this classification represents three distinct species. Indeed, we have abundant evidence that each represents a type rather than a species. As we have shown in a previous publication (Rep. Storrs Sta. 1899) there are numerous varieties of the *B. acidilactici*, varying in several points, especially in the amount of acid produced. The same is even more distinctly true of No. 208, for the organisms that we have in these experiments regarded as *B. lactis aërogenes*, show variations too great as to allow us to regard them as a single species. A more careful differentiation of this type of bacteria is to be undertaken in our laboratory, but in these cream ripening experiments any further differentiation has been impossible.

In addition to these there is in ripening cream a fifth group of bacteria which we have in general called miscellaneous. They agree only in not producing acid. Commonly they produce an alkaline reaction, although sometimes the reaction is unchanged. Some of them liquify the gelatin while others do not. They consist of quite a number of different species, comprising more varieties than the acid bacteria. From the tables it will be seen that the numbers of these miscellaneous bacteria is very small in ripened

1) Rep. of Storrs Sta. 1899.

cream, a fact which led us to believe at first that they have little to do with the cream ripening, although later experiments have made us doubt the correctness of this conclusion.

Table III gives the results of experiments in with cream from a large creamery, extending from October to May 1900, and two experiments in January 1901. The results are here expressed in percentages.

Table V. Percentage of the chief bacteria in creamery cream.

Date	Unripened cream					Ripened cream				
	No. 206	No. 202	No. 208 + 3 cc.	Total acid	Mis- cella- neous	No. 206	No. 202	No. 204	Total acid	Mis- cella- neous
	Per cent	Per cent	Per cent	P. cent	P. cent	Per cent	Per cent	Per cent	P. cent	P. cent
Oct. 19 1900	51,6	10,4	1,9	64,0	35,7	63,6	35,6	0,5	99,7	0,31
" 26 1900	77,0	14,3	3,5	94,8	5,2	73,0	24,0	0,7	97,7	2,3
Nov. 2 1900	71,0	23,0	3,9	97,9	2,1	77,5	19,0	1,1	97,6	2,4
Oct. 30 1899	50,0	35,0	10,0	95,0	5,0	55,0	41,0	2,5	98,5	1,5
March 23 1900	44,0	2,0	6,0	50,0 +	50,0 -	88,0	10,0	?	98,0 +	2,0 -
May 4 1900	52,0	3,3	2,0	87,0	13,0	66,0	26,0	2,0	94,0	6,0
Jan. 19 1901	33,0	12,0	7,0	52,0	48,0	77,0	17,0	5,0	99,0	1,0
" 28 1901	75,0	?	9,0	84,0	14,0	89,0	?	2,0	91,0	9,0

From this table five important results may be noticed as follows:

1. In all of the experiments recorded there has been, during the ripening, an increase in the percentage of acid producing bacteria. Whereas the number in the unripened cream varies from 50 to 94 per cent, the number in the ripened cream in no case falls below 91 per cent and is commonly from 97 to 100 per cent.

2. There is a nearly uniform increase in the percentage of the common lactic bacteria No. 206 (*B. acidilactici*).

3. There is usually an increase in percentage of the second common lactic bacteria No. 202.

4. There is generally a slight decrease in the percentage of the No. 208 (*B. lactis aërogenes*), which, though common in all samples, does not occur in very large numbers.

5. The miscellaneous alkaline group of bacteria in these experiments form a much larger per cent than in the experiments of Tables I and II, but there is a universal decrease in their percentage during the ripening.

In order to compare these results obtained with cream from a creamery with those from a private dairy, the results of three preliminary experiments are reported in the following table, made with cream from two small dairies, where it was possible to obtain the cream in a condition fresher than that at the creamery (Table VI p. 751.)

In comparing the experiments in Table VI with those given in Table V two very striking differences are to be seen.

1. The number of acid bacteria present in the unripened cream is extremely small. In these three experiments the pro-

Table VI. Percentage of chief types of bacteria in dairy cream.

Date	In unripened cream					In ripened cream				
	No. 206	No. 202	No. 208	Total acid	Mis-cellaneous	No. 206	No. 202	No. 208	Total acid	Mis-cellaneous
	Per cent	Per cent	Per cent	P. cent	P. cent	Per cent	Per cent	Per cent	P. cent	P. cent
Jan. 4 1901	5,0	2,0	0	7,0 +	93,0	96,0	1,0	0	97,0	3,0
Febr. 4 1901	1,0	?	?	1,0	99,0	59,0	2,0	3,0	62,0	38,0
Jan. 28 1901	9,2	?	?	9,0	91,0	86,0	12,0	0	98,0	2,0

portion of acid bacteria were respectively 1 per cent, 7 per cent and 9 per cent. The actual numbers were also very small.

2. On the other hand, the number of miscellaneous bacteria in cream from a private dairy was very large. The proportion being respectively 99 per cent, 93 per cent and 91 per cent while in the cream from a large creamery the proportion was smaller.

The interpretation of these phenomena is very evident. It simply means that the cream was obtained in these three experiments in a very much fresher condition than that which was found in the creamery. The cream was very fresh, obtained directly from the cooley creamer in each case. The great contrast between the unripened cream in these samples and in those obtained in the creamery confirms the view that that cream, as it is obtained in the creamery, is always in a partly ripened state, and that in order to completely understand the ripening of cream, attention must be turned to fresh cream. Such fresh cream can commonly be obtained only from private dairies. This conclusion has led us to undertake a series of experiments of quite a different character.

Ripening of cream from private dairies.

These experiments have been carried on with the cream from four private dairies. The cream was separated by the gravity system in all cases, but was always obtained in a much fresher condition than the earlier experiments, being the freshest obtainable. The first series of plates were made within two or three hours from the time the cream was separated from the milk. That it was quite fresh is shown by the comparatively small number of bacteria present as shown in the first line of the first column. In some cases, the number of bacteria was so small that, with the dilutions that were used, they could not be satisfactorily estimated. After the first plates were made the cream was set to ripen at a normal ripening temperature about 68 to 70°. A second plate was made at the end of 12 hours, another in 24 hours, and others at intervals of 12 hours for a period covering 84 hours. Thus eight analyses were made of each sample of cream at intervals of 12 hours. It was thought that the study of the series plates thus made would give a picture of the changes that take place in the cream during its ripening and would show more satisfactorily the bacterial development in the cream ripening

than any isolated experiments could do. The following tables represent the results of experiments of this sort, performed with cream from four different dairies. It will be noticed that, whereas there are some points of difference in the numbers, the general results of the analyses in all cases are practically identical, a fact of especial significance since they extended over six months (January to July), and were from four dairies. (Conclusion follows.)

Nachdruck verboten.

Ueber den Einfluss der Bakterien auf die Knochenzersetzung.

Von A. Stutzer, Königsberg.

Unter vorstehendem Titel sind von Prof. Stoklasa im Centralblatt. Bd. VI. p. 526 und 554, sowie in der „Zeitschrift für das landw. Versuchswesen in Oesterreich. 1901“ die Ergebnisse von Versuchen über die Thätigkeit von Bakterien im Boden veröffentlicht, welche geeignet sind, die Aufmerksamkeit weiterer Kreise in Anspruch zu nehmen.

Das verwendete Knochenmehl war reich an Stickstoff, es enthielt 5,26 Proz. N. (davon 0,68 Proz. N. in Form durch Chloroform abschlämmbarer Bestandteile) und 19,8 Proz. Phosphorsäure. Je 10 g Knochenmehl wurden in Glasgefäßen mit 900 ccm Wasser übergossen, in welchem geringe Mengen von Kaliumsulfat, Magnesiumchlorid und Eisensulfat gelöst waren. Die sterilisierten Flüssigkeiten sind mit verschiedenen Bakterienarten infiziert und waren nach Verlauf von 33 Tagen gelöst:

	vom N.	von der P205.
durch Wasser, ohne Bakterien	3,69 Proz.	0,78 Proz.
„ Bac. Megaterium	4,98 „	4,27 „
„ fluoresc. liquef.	5,00 „	1,82 „
„ Proteus vulg.	4,59 „	2,93 „
„ butyr. Hüppe	5,06 „	3,08 „
„ mycoides	5,10 „	4,56 „
„ mesenteric. vulg.	4,76 „	4,08 „

Mit dem gleichen Knochenmehl sind dann Vegetationsversuche im Glashause ausgeführt. Die Gefäße bestanden aus unglasiertem Thon, sie faßten 32 kg Boden mit 12 Proz. Wassergehalt. Der Boden (welche Art von Boden?) wurde den Versuchsfeldern entnommen und im nicht sterilisierten Zustande verwendet. Er enthielt 0,02 Proz. P205 und 0,14 Proz. N.

Gedüngt wurde jedes Gefäß am 1. April mit 5 g Knochenmehl, die Aussaat des Hafers fand am 16. April statt, die Infektion mit Bakterien (nach Angabe der Versuchsreihe C, bei den anderen Versuchen fehlt die Notiz) am 19. April.

Eine Versuchsreihe erhielt nur Knochenmehl, ohne mit Bakterien zu impfen, bei einer anderen Versuchsreihe ist statt des Knochenmehles soviel P205 in Form von Superphosphat und soviel

N. in Form von Salpeter gegeben, als dem Gehalte des Knochenmehles an diesen beiden Nährstoffen entsprach. Auch in diesem Falle wurde mit Bakterien nicht geimpft. Jede Versuchsreihe bestand aus 10 Einzelversuchen.

Die Infektion der übrigen Versuchsböden ist in der Weise ausgeführt, daß die Bouillonkulturen (wieviel?) mit sterilem Wasser auf 1 l verdünnt wurden, von welcher Verdünnung je 100 ccm gebraucht sind. Nach dem mitgeteilten N.-Gehalte dieser Lösungen muß man annehmen, daß die ursprünglichen Bouillonkulturen ungefähr 10 ccm betragen, somit für je 32 kg der nicht sterilisierten Erde 1 ccm der Impfflüssigkeit Verwendung fand. Dies sei nur aus dem Grunde erwähnt, um darauf hinzuweisen, daß die Zahl der durch die Infektion zu dem Boden neu hinzugefügten Bakterien eine relativ erhebliche nicht gewesen sein kann, und um so mehr der später beobachtete Wirkungswert dieser Bakterien Beachtung verdient.

Bei der Ernte, die nach 4-monatlicher Vegetationsdauer stattfand, hatten alle vorhin erwähnten Bakterienarten, im Vergleich zu der alleinigen Anwendung von Knochenmehl (ohne Bakterien) eine Wirkung ergeben. Ich greife nur die Versuche mit *Bac. Megaterium* heraus, weil mit dieser Bakterienart (die von Stoklasa irrtümlich als mit den *Alinit*-Bakterien identisch angegeben wird) die meisten Versuche ausgeführt sind.

Die Gesamterträge aus 10 Vegetationsgefäßen an Körnern plus Stroh waren:

		relative Zahlen:
1) Boden nur mit Knochenmehl gedüngt, ohne Zugabe von Bakterien-Reinkulturen	375 g	100
2) Knochenmehl und <i>Bac. Megaterium</i>	514 "	137
3) Wie 2 und außerdem 2,5 g Glukose für je 32 kg Erde	592 "	140
4) Wie 2 " " 2,5 g Xyloee " " "	718 "	192
5) Kein Knochenmehl, keine Reinkulturen von Bakterien, sondern mit Superphosphat und Chilesalpeter gedüngt	474 "	126.

Diese Zahlen ergeben eine überraschend günstige Wirkung der Bakterien im Boden, für die Stoklasa leider eine Erklärung nicht giebt. Namentlich fällt mir auf, daß Knochenmehl, unter dem Einflusse von *Bac. Megaterium*, bei einer Pflanze von kurzer Vegetationsdauer besser wirkte als Superphosphat und Chilesalpeter. (Siehe Versuch 4 und 5.)

Zweifellos hat die P205 des Knochenmehles für Pflanzen von längerer Vegetationsdauer einen nicht zu unterschätzenden Wert, aber dieser kann bei einer Pflanze, deren Samen unmittelbar nach der Düngung in den Boden gebracht wurden, und die nach 4 Monaten ihre Samenreife erlangte, der P205 des Superphosphates unbedingt nicht gleich geschätzt werden. Dasselbe ist vom N. zu sagen, der Hafer wird den N. des Salpeters nicht in geringerem Maße ausnutzen, als den N. des Knochenmehles.

Man könnte sagen: Entweder sind bei den Versuchen Verluste an Superphosphat und Salpeter eingetreten, oder es ist N. aus der Luft von den Bakterien aufgenommen und dieser dann durch die

Haferpflanze assimiliert oder es sind die schwer löslichen N-Verbindungen des Bodens unter dem Einfluß der Bakterien leichter löslich geworden. Leider fehlt jeder analytische Nachweis über den Gehalt der Ernteprodukte an P₂O₅ und N.

Gegen erhebliche Verluste an löslichen Nährstoffen spricht der Vergleich zwischen den Versuchen 1 und 5. Und bezüglich der Aufnahme des N. aus den soeben erwähnten Quellen würde es merkwürdig sein, daß gerade die künstlich gezüchteten, in Reinkultur hinzugegebenen Bakterien eine andere Wirkung ausüben sollten, als die natürlich im Boden enthaltenen Bakterien von gleicher Art.

Nach den Angaben von Stoklasa wissen wir allerdings nicht, welche Bakterienarten in dem nicht sterilisierten Boden enthalten gewesen sind, aber man wird annehmen können, daß die vom Versuchsfelde entnommenen 32 kg des Bodens eine unendlich größere Anzahl von Keimen, beispielsweise des *Bac. mycoides*, enthielten als durch die Impfung neu hinzugekommen sind.

Setzt man, wie vorhin angegeben, die Wirkung des Knochenmehles nach Versuch 1 gleich 100, so wurde erzielt durch Superphosphat und Salpeter (Versuch 5) 126 und durch Knochenmehl, geimpft mit einer Reinkultur von *Bac. mycoides* 163. (Außerdem wurden den 32 kg des Bodens 2,5 g Glukose beigemischt, ohne Glukose sind keine diesbezüglichen Versuche ausgeführt.) Auf welche Umstände ist die erhebliche Wirkung von *Bac. mycoides* oder des *Bac. Megaterium* zurückzuführen? — Weshalb sind diese im Boden bereits vorhandenen Bakterien nicht in gleicher Weise wirksam? — Die Beantwortung derartiger Fragen würde sehr wichtig sein, zumal eine (direkt oder indirekt) sich geltend machende Düngewirkung der bei einigen Versuchen hinzugegebenen Kohlehydrate allen bisherigen Erfahrungen widersprechen dürfte.

Nachdruck verboten.

Ueber die *Nematospora Coryli* Pegl.

Von Dr. Vittorio Peglion.

Mit einer Tafel.

Schon im Jahre 1897 habe ich in einer kurzen, der R. Accad. dei Lincei übergebenen Notiz¹⁾ eine merkwürdige Alteration der Früchte des Haselnußstrauches (*Corylus Avellana*) beschrieben, wahrscheinlich verursacht durch einen Mikroorganismus, den ich wegen seiner eigentümlichen Eigenschaften schon damals für den Typus eines neuen Genus aus der Familie der Blasto- oder Saccharomyceten, des Genus *Nematospora*, erklärte und unter dem Speciesnamen *Nematospora Coryli* Peglion beschrieb.

Die Bauern des südlichen Italien nennen „ammannate“ diese

1) Rendic. della R. Accad. dei Lincei, Seduta del 7. Nov. 1897.

verdorbenen Nüsse, die man makroskopisch daran erkennt, daß ihre Schalen bisweilen teilweise geschwärzt und der periphere Teil des Kernes verdorben ist. Diese Benennung verdient es, die Aufmerksamkeit des Naturforschers einen Augenblick zu beschäftigen, denn ihr etymologischer Ursprung erlaubt einige nicht uninteressante Schlüsse. „Manna“, „melata“, „meligine“ sind ziemlich synonym und unter den italienischen Bauern sehr verbreitete Ausdrücke. Sie bezeichnen seit undenklicher Zeit jene Alterationen an Pflanzen oder Teilen derselben, die auf Parasitismus folgen. In diesem wie in nicht wenigen anderen Fällen ist die Anschauung derer, die das Land bewohnen, der exakten Beobachtung vorausgeeilt, indem sie, ohne sie genau zu bestimmen, die von Erscheinungen des Parasitismus herrührenden Alterationen von denen unterschied, die von anderen, nicht organisierten Ursachen abhängen. Meine Untersuchungen haben bewiesen, daß im Falle der „ammannate“-Haselnüsse die Idee richtig ist, die im Geiste der Landleute herrschte, indem sie diese Alteration einer parasitischen Ursache zuschrieben.

Diese „ammannate“ Nüsse sind viel häufiger, als man vermuten kann. Man untersucht selten eine etwas bedeutende Menge dieser Früchte, ohne nicht wenige Exemplare anzutreffen. Allerdings ist es schwer, wenn nicht unmöglich, sie von den gesunden zu unterscheiden, wenn die Schale unversehrt ist, aber bei einiger Uebung gelingt es, und die geschälten erkennt man auf den ersten Blick.

Seit 1897 habe ich eine möglichst große Zahl von Exemplaren von verschiedener Herkunft untersucht, und zwar von der besten Handelsware und auch die Ausschußsorten. Unter fast allen Arten habe ich einen nicht immer unbedeutenden Prozentsatz von verdorbenen Nüssen gefunden. Dieses Jahr konnte ich an den frischen, von Viterbo stammenden Nüssen, die als Erstlinge auf dem römischen Markte verkauft wurden, feststellen, daß in einigen Fällen bis zu 25 Proz. von der Alteration befallen waren, und ich übertreibe nicht, wenn ich behaupte, daß die gewöhnliche Mittelzahl selten unter 5–6 Proz. herabgeht. Natürlich finden sich von einem Jahrgang zum anderen starke Unterschiede, denn wie bei allen Alterationen parasitischer Natur, hat der Gang des Klimas großen Einfluß auf die Verbreitung des Uebels. Nicht alle Varietäten scheinen der Krankheit gleich stark ausgesetzt zu sein, denn ich habe in denen mit verlängerter, abgeplatteter Frucht, wie die frühreifen von S. Giovanni, niemals eine Spur davon gefunden; dagegen ist sie sehr verbreitet unter den Varietäten mit runder Frucht vom Typus der „camponica“ aus dem Süden Italiens.

Die „ammannate“ Nüsse haben einen bitteren, eigentümlich widerwärtigen Geschmack, der Niemandem entgangen sein kann, der sie unwillkürlich genossen hat. Nach Entfernung der Schale erscheint die Samenschale höckerig, mit dunklen Flecken besetzt, zum Teil von den darunterliegenden Kotyledonen abgelöst. Unter diesen Flecken ist das Gewebe der Kotyledonen vertieft, schlaff;

wenn man den Samen in der Richtung dieser Eindrücke durchschneidet, zeigen sich die Kotyledonen tief alteriert; das periphere Gewebe ist weich, schwammig, weißlich-achgrau, gelbgestreift und von dem gesunden Teile durch einen braunen Rand getrennt. Diese Alteration, die sich auf die ganze Peripherie der Kotyledonen erstrecken kann, dringt einige Millimeter weit unregelmäßig nach innen ein.

Die mikroskopische Untersuchung der Schnitte zeigt zahlreiche Zerfallshöhlen, die in Windungen durch die Masse der Kotyledonen verteilt sind und Inseln von Gewebe begrenzen, dessen Elemente noch fest zusammenhängen, aber leicht gebräunt sind und deren Zellinhalt sich in fortschreitender Alteration befindet. Die Oeltröpfchen und die Aleuronkörnchen sind größtenteils verschwunden, so daß in den an die Höhlen grenzenden Zellen nur ein geringer Rest des Grundplasmas übrig ist.

In den ohne vorhergehende Behandlung in Glycerin eingelegten Schnitten sieht man mit großer Schwierigkeit an den Grenzen der Höhlen Bündel von fadenförmigen Sporulen, sehr ähnlich Gruppen von Raphiden oder Bündeln von Sporulen, wie bei nicht wenigen Arten skolekosporer Ascomyceten. Um diese Gruppen von Sporen, sowie die Schläuche, in denen sie eingeschlossen sind, besser zu beobachten, muß man die Oeltröpfchen sowie das Aleuron aus den Schnitten ganz entfernen, denn fast alle diese Organe sind damit gefüllt und wenig durchsichtig.

Ich unterwarf zuerst die Nüsse einer lange dauernden Ausziehung des Oeles durch Schwefeläther in einem Apparat, der gewöhnlich zur Bestimmung der Fettsubstanzen in Nahrungsmitteln gebraucht wird. Aber ich überzeugte mich bald, daß diese Operation überflüssig war und daß man mit folgendem Verfahren ausgezeichnete Resultate erhielt:

Die nicht sehr dünnen Schnitte bringt man in eine Mischung von Ricinusöl und Aether zu gleichen Teilen und läßt sie ungefähr $\frac{1}{2}$ Stunde lang darin, dann wäscht man sie wiederholt, indem man sie in Gefäßen mit Aether und dann in einer Mischung von Aether und Alkohol umschüttelt. Aus dieser Mischung bringt man sie in absoluten Alkohol und legt sie dann unmittelbar in Balsam ein, nachdem sie noch durch Nelkenöl gegangen sind, oder man behandelt sie mit Lösung von Poirier's Blau in Milchsäure, oder von Bismarckbraun in Wasser, ehe man sie zuletzt in Glycerin oder Kanadabalsam einschließt.

In diesen Präparaten sieht man leicht die um die Zerfallshöhlen liegenden Gewebe ganz vollgestopft von isolierten Sporulen, die zu Bündeln vereinigt oder in der Zahl von 8 in den cylindrischen Schläuchen eingeschlossen sind.

Wenn die Sporulen und die Schläuche spärlich sind, findet man sehr häufig saccharomycetiforme Elemente, deren Zellen sehr merkliche Variationen sowohl in der Form als in der Größe zeigen. Man findet ovale oder fast kugelige Zellen, wenig verschieden von denen des *Saccharomyces ellipsoideus*, und andere

cylindrische, ähnlich denen des *Schizosaccharomyces Pombe*, aber viel größer.

Ich konnte diesen merkwürdigen Mikroorganismus leicht isolieren und habe schon in der angegebenen Arbeit eine kurze Beschreibung von ihm gegeben. Während der ersten Untersuchungen, die bestimmt waren, die Natur der Alteration der Nüsse zu bestimmen, bewahrte ich, wie gewöhnlich, Nüsse in einer feuchten Kammer auf durchnäßigem Filtrierpapier auf. Schon damals beobachtete man nach 24 Stunden an den alterierten Geweben kleine weiße Kolonien, die man unter dem Mikroskope als den zu untersuchenden Mikroorganismus erkannte. Aber diese Kolonien waren beständig mit Bakterien verunreinigt, sowie mit Schimmel — *Rhizopus* —, welcher die Isolierung der Species, die am meisten interessierte, sehr erschwerte. Nun entnahm ich soeben geschälten Nüssen mit der nötigen antiseptischen Vorsicht Stückchen von der Pulpa und inokulierte sie in Röhren, die Fleischbrühegelatine enthielten. Aus diesen Kulturen konnte ich nach der gewöhnlichen Methode der Petri'schen Kapseln den Mikroorganismus in Reinkultur erhalten und 2 Jahre lang vermehren, während deren viele Gelehrte, die das Laboratorium besuchten, die Kulturen und Präparate untersuchen konnten. Nachher standen die Kulturen, die während der Ferien des Jahres 1899 im Laboratorium zurückgeblieben sind, ich weiß nicht, durch welchen unglücklichen Zufall, in ihrer Entwicklung still, und es gab kein Mittel, um sie wieder zu beleben.

In Kulturen in neutraler Fleischbrühegelatine bildet die *Nematospora Coryli* weiße, punktförmige Kolonien, die sich schnell vergrößern und dabei eine ähnliche strahlige Form annehmen, wie die so charakteristische der *Dematium*- und einiger verwandter Formen.

Die *N. Coryli* entwickelt sich schwer in Gelatine mit deutlich saurerer Reaktion; auf Fleischbrüheagar (unter Befolgung der von Lindner angegebenen Methode, um Riesenkolonien zu erhalten), bekommt man zuerst Kolonien mit gleichförmiger Entwicklung und Struktur, so daß man einen großen Wachsfleck zu sehen glaubt; dann vertieft sich die Mitte der Kolonie kraterförmig, der Rand ist stark eingeschnitten, wie man an der Figur sieht.

Von allen festen Substraten lieferte mir die besten Resultate die Zuckerrübe (die Varietät mit weißem Fleisch). Man bereitet sie auf dieselbe Weise zu wie die Kartoffeln, zerschneidet sie unter Wasser und sterilisiert sie sorgfältig mit Dampf, um zu vermeiden, daß die Oydase, an denen die Wurzel ziemlich reich ist, die Stücke schwärzen. Auf diesem Substrat (das ausgezeichnet ist für alle Saccharomyceten und zahlreiche Pilzformen, die unter natürlichen Bedingungen im saprophytischen Zustande oder als fakultative Parasiten von Kulturpflanzen leben) ist die Entwicklung der *Nematospora* eine sehr schnelle. 24 Stunden nach der Aussaat bemerkt man einen weißen, perlmutterartigen Streifen, der schnell zunimmt und einen dicken weißen Streifen mit glattem Umriss

bildet, der einige Millimeter über die Oberfläche des Substrates hervorragte. Nach ungefähr 10 Tagen muß man neue Uebertragungen auf frisches Substrat machen, indem sich die Kultur infolge von Sporenbildung zu einem dünnen, weißgelblichen Ueberzuge reduziert.

Die große Leichtigkeit und Schnelligkeit, mit der sich die *Nematospora Coryli* auf der Zuckerrübe entwickelt, erleichtert die Verfolgung ihres ganzen Entwicklungskreises. Wenn man aus einer alten Kultur eine Spur des erwähnten Ueberzuges entnimmt (er besteht fast ganz aus freien Sporulen) und streifenförmige Aussaaten auf frische Stücke macht, kann man alle Phasen der Entwicklung von der Keimung der Sporen bis zur Bildung der neuen Schläuche verfolgen.

Wie ich in der angeführten Arbeit sagte, sind die Sporen der *Nem. Coryli* fadenförmig oder besser ein wenig spindelförmig; die eine der Spitzen ist abgerundet, die andere läuft in ein langes Flagellum oder eine Geißel aus, die in jedem Zustande des Substrates, auf dem sich die Spore befindet, unbeweglich ist. Ihre Länge schwankt zwischen 38 und 40 μ , ohne die Geißel, die 35—40 μ mißt. Die Dicke der Spore beträgt 2—3 μ .

Wenn die Sporulen im Ascus eingeschlossen sind, bemerkt man die Geißeln nicht; sie sind sehr wahrscheinlich zurückgebogen und liegen den Sporulen eng an. In den Gruppen von Sporulen (Fig. 8), die man im Innern der Gewebe der verdorbenen Nüsse durch die Oeltröpfchen zusammengehalten findet, sind die Geißeln ziemlich deutlich, denn sie ragen wie Schwänze aus den Tröpfchen heraus; man erkennt deren Grenzen besser, wenn man die Präparate mit Alkannatinktur behandelt.

Nach Anweisung des Prof. Giard, dem ich gleich zu Anfang Kulturen dieses merkwürdigen Mikroorganismus zur Prüfung übersendet hatte, habe ich viele Sporen enthaltende Präparate mit Gentianaviolett und mit Sublimatkarmin gefärbt, unter Befolgung der gewöhnlichen Technik. Sowohl mit diesem Verfahren, als mit dem von Buscalioni angegebenen, das im Gebrauche von leicht durch Ammoniakdämpfe alkalisiertem Hämatoxylin besteht, erhält man sehr instruktive Präparate. Man macht einen großen Kern an dem angeschwollenen Teile der Sporula sichtbar, so daß diese fast zweiteilig erscheinen, und man sieht das Plasma an beiden Enden der Spore angehäuft, besonders an der stumpfen Seite.

Auf passendem Substrate keimen die Sporen sehr leicht, auch sehr bald nach ihrer Bildung. Das erste Anzeichen, das man bemerkt, ist das Verschwinden des Flagellums (Fig. 1); dann zieht sich die Spore zusammen und wird etwas kürzer, indem sich beide Enden leicht abrunden. Der Inhalt wird feinkörnig. Durch uni- oder bipolare Knospung entstehen neue Zellen, die nach Erreichung einer gewissen Größe ebenfalls Knospen treiben, wobei sie einige Zeit mit der Mutterzelle verbunden bleiben. In diesen Perioden erinnert die Größe dieser Knospen (4—5 μ Durchmesser) und ihre Anordnung genau an die gewöhnlichen Saccharomyceten.

Zu einer gewissen Zeit lösen sich jedoch die Knospen von der Mutterzelle ab, fahren einige Zeit fort, sich zu vermehren, und dann vergrößern sich die einzelnen Individuen schnell, indem sie eine cylindrische Gestalt annehmen. Der körnige Inhalt, der zuerst die ganze Zelle ausfüllt, zeigt verschiedene, ziemlich große Vakuolen, die ziemlich zahlreich sind, wenn die Elemente ihre größten Dimensionen erreicht haben (65–70 μ Länge auf 6–8 μ Dicke).

Nicht alle saccharomycetiformen Elemente verhalten sich aber auf diese Weise. In alten Kulturen sieht man verhältnismäßig viele runde oder ovale Zellen mit doppelter glänzender Wand, ohne Inhalt oder voll feiner Granulationen mit Brown'scher Bewegung. Auf diese anomalen vegetativen Formen wurde ich auch von Prof. Giard hingewiesen, der auch in nicht wenigen Fällen Faltungen der inneren Membran beobachtete. Es ist mir nicht gelungen, obgleich ich die Kulturen in allen Entwicklungszuständen beobachtet habe, eine sichere Erklärung dieser Anomalien zu geben. Doch glaube ich, nicht zu irren, wenn ich ihnen folgenden Ursprung zuschreibe: Wenn die keimende Mutterzelle, die aus einer Sporula her stammt, aufhört, neue Knospen zu treiben, wächst sie eine gewisse Zeit lang, aber ziemlich langsam, und es scheint nicht, daß sie in irgend einem Falle dem Schicksale der Generationen folgen könne, die von ihr entsprungen sind. Während diese sich vergrößern und sich in Schläuche umbilden, scheinen die genannten Mutterzellen nach kurzdauerndem vegetativen Leben ganz stillzustehen, worauf der Tod folgen muß.

Solche Elemente sind in den Kulturen reichlich vorhanden. Wenn sie alt geworden sind, bestehen sie ausschließlich aus freien Sporen und aus solchen Elementen, die keine spezifische Reaktion geben. Wenn man Uebertragungen aus einer Kultur in eine andere macht, zur Verjüngung derselben, ist der Uebergang einer gewissen Zahl dieser Elemente zugleich mit den Sporen unvermeidlich, aber auch unter den neuen Verhältnissen der Umgebung bleiben sie unverändert.

Ehe ich den Verlauf der Sporenbildung angebe, muß ich bemerken, daß *Nematospora Coryli* sich nur sehr schwer flüssigen Nährböden anpaßt. Unter diesen Umständen, welcher Art auch die Natur und die Reaktion der Flüssigkeit sei, ist die Entwicklung mühsam, vielleicht wegen der geringen Lüftung der tiefen Schichten des Substrates. Der Mikroorganismus pflanzt sich nicht mehr durch Knospung fort; er bildet ein steriles Mycel, bestehend aus kurzen, zu torulösen Hyphen vereinigten, an Oeltropfchen reichen Elementen, die niemals auf Fortpflanzung hindeuten. Anstatt sich in oberflächlichen Platten auszubreiten, bildet das Mycel kugelige Kolonien, ähnlich denen, die man bei Kultur gewisser Schimmel in flüssigen Substraten erhält, während sie, mit der nötigen Vorsicht auf ein festes, geeignetes Substrat übertragen, in kurzem die dissocierte, knospende, zur Hervorbringung der charakteristischen Ascosporenfrüchte geeignete Form erzeugen.

Ich kann nicht umhin, an dieser Stelle die Analogie hervorzuheben, die zwischen dem Verhalten dieses Mikroorganismus und

dem von anderen Blastomycetenformen besteht, die, wenn sie gezwungen werden, in flüssigen, für ihre Entwicklung nicht geeigneten Nährböden zu leben, ebenfalls ein echtes, wirkliches Mycel hervorbringen, dessen Bildung an die besonderen filamentösen Formen erinnert, die unter ähnlichen Umständen von einigen Bakterienformen angenommen werden. Diese Mycelformen von Saccharomyceten sind immer steril und müssen die dissociierte Form wieder annehmen, um Fruktifikationen hervorbringen zu können.

Wenn die hier besprochenen Zellen die angegebenen größten Dimensionen erreicht haben, $65-70 \times 6-8 \mu$, geben sie eine deutliche Reaktion von Glykogen, wenn die frischen Präparate mit Lösung von Jod in Jodkalium behandelt werden. Die intensiv braune Färbung, welche der Zellinhalt annimmt, ist das Zeichen, daß die Sporenbildung nahe bevorsteht. Diese entstehen in Gestalt von 2 tetrasporen Bündeln, die an beiden Enden des Zellschlauches angeordnet sind, dessen ganze Höhlung sie ausfüllen (Fig. 7). Die Dauer der Haut des Schlauches ist kurz. Die Sporenen werden nach sehr kurzer Zeit frei, und wenn der Zustand des Substrates es erlaubt, keimen sie fast unmittelbar nach ihrer Bildung. Nicht selten sind die Sporenen beim Austritt aus dem Schlauche zu zwei und zwei so eng miteinander verklebt, daß die Flagella miteinander verbunden bleiben. In den mit Dämpfen von Osmiumsäure behandelten Präparaten ist es jedoch immer leicht, die beiden Sporenen deutlich zu unterscheiden, da ihre Verbindung wenig beständig ist.

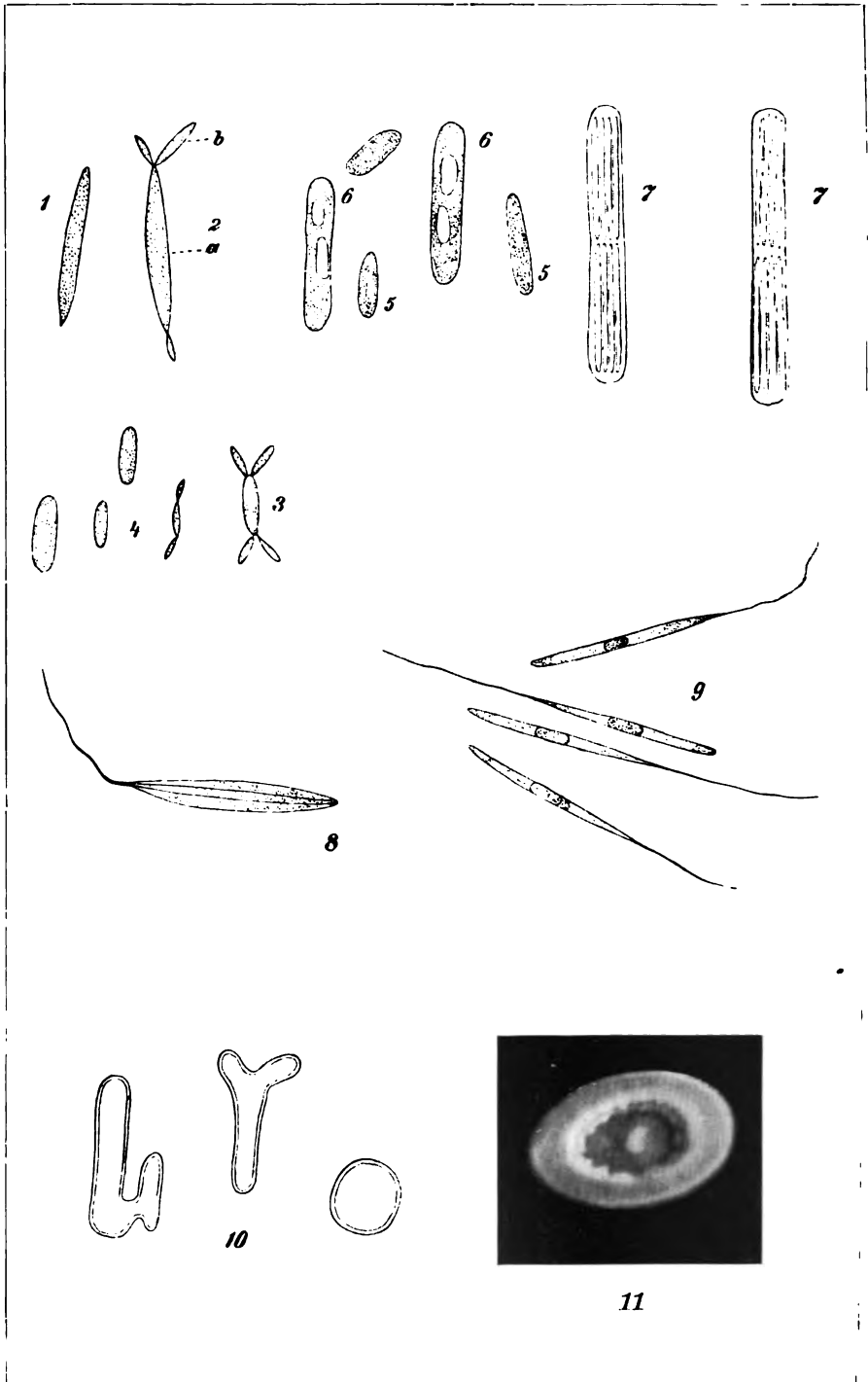
Die an diesen Mikroorganismen beobachteten Eigenschaften, nämlich die Vermehrung durch Knospenbildung und die endogene Erzeugung der Sporenen in einem Zellschlauche, bestimmen seine Stellung unter die Saccharomyceten. Allerdings liegt ein Widerspruch in der Benennung, weil man nicht sagen kann, dieser Mikroorganismus sei ein Zuckerpilz; vielleicht wäre die alte Benennung „Blastomycet“ richtiger; aber diese ist in letzter Zeit von Leuten, die mit der Mykologie wenig vertraut sind, etwas allzu leicht angewendet worden.

In der Familie der Saccharomyceten wiegen die Arten mit ovalen oder sphärischen Sporenen vor, aber es besteht schon ein Genus mit fadenförmigen Sporenen, das Genus *Monospora*, von Metschnikoff im Jahre 1884 aufgestellt, so daß wir bei Unterabteilung dieser Pilzfamilie nach den von dem Prof. Saccardo für die anderen Familien der Ascomyceten angenommenen Kriterien die bis jetzt bekannten Genera folgendermaßen ordnen können:

Saccharomyceten	{	m. oval., kontinuierl. Spor. (Tri-tetraspori): <i>Saccharomyces</i>
		(amerospori). Schläuche (Octospori): <i>Schizosaccharomyces</i>
		m. fadenförmigen Sporenen (Monospori): <i>Monospora</i>
		(scoleospori). Schläuche (Octospori): <i>Nematospora</i> .

* * *

Es bleibt uns nur noch übrig, einige kurze Andeutungen über die Frage des Parasitismus dieses Blastomyceten in den Haselnüssen zu geben. Prof. Giard teilte mir mit, er habe versucht,



diesen Pilz in Kotyledonen von reifen Nüssen zu inokulieren. Er beobachtete jedoch, daß der Pilz sich langsam und mühsam entwickelte und von dem Schimmel überwältigt wurde, der so leicht in der feuchten Kammer aufbewahrte Nüsse befällt.

Aus den Angaben, die ich sammeln konnte, glaube ich schließen zu können, daß die Infektion nicht stattfindet, wenn die Nüsse der Reife nahe oder ganz reif sind; in diesem Zustande bemerkt man vielmehr bei schon alten Infektionen einen Stillstand und der Parasit bildet Sporen. Ich erinnere mich, nicht wenige Nüsse gesehen zu haben, die in der Entwicklung noch sehr zurück waren (Mai-Juni) und schon die charakteristischen, von der *Nematospora Coryli* verursachten Alterationen zeigten. Diese Läsionen nehmen meistens die Gegend der Mikropyle des Samens ein und wahrscheinlich geschieht das Eindringen der Keime des Parasiten mittels der durch den Griffel hinterlassenen Spur, wenn das Perikarp noch nicht holzig ist.

Es ist ziemlich schwer, die Zeit zu bestimmen, in der die Infektion stattfindet, weil die Fruktifikation der Nuß eine sehr lange Zeit umfaßt, die bei einigen Varietäten vom Januar bis zum Oktober dauert. Außerdem tritt die Entwicklung der weiblichen Blüten nicht gleichzeitig ein; manche entwickeln sich und werden sehr spät befruchtungsfähig, so daß dieselbe Pflanze Früchte in verschiedenen Entwicklungszuständen aufweist.

Wenn man diese Thatsachen mit der anderen, von der volkstümlichen Benennung herrührenden in Verbindung bringt, die offenbar eine Beziehung zwischen dem Auftreten des Uebels und den meteorologischen Zuständen annimmt, die der Beobachtungsgeist der Ackerbauer für geeignet erkannt hat, um die Entwicklung der „manna“ oder „melligine“ zu verursachen, so folgt offenbar daraus, daß in diesem wie in vielen anderen Fällen das Gelingen der Infektion nicht ausschließlich an die Gegenwart der Keime des Parasiten gebunden ist. Damit diese statfinde, müssen besondere Zustände der Umgebung oder Störungen der Ernährung einen passenden Boden schaffen, um die Keime der Infektion aufzunehmen, indem sie die Pflanze oder das Organ ihrer angeborenen Widerstandsfähigkeit berauben. Dies erklärt mehr als hinreichend die verschiedene Intensität, mit der die Krankheit von einem Jahre zum anderen in den Nutzpflanzungen auftritt.

Ferrara, 15. Juli 1901.

Erklärung der Abbildungen.

- Fig. 1. Spore von *Nemat. Coryli* nach Entfernung des Flagellums.
 „ 2. Spore in Knospung begriffen.
 „ 3. Knospungen, die weitere Knospungen hervorbringen.
 „ 4, 5, 6. Verschiedene Phasen des Wachstums der Knospungen.
 „ 7. Zellschlauch von *Nemat. Coryli*.
 „ 8. Gruppe von 3 miteinander verklebten Sporen.
 „ 9. Isolierte Sporen, mit Gentianaviolett behandelt.
 „ 10. Anomale vegetative Formen von *Nematospora*.
 „ 11. Riesenkolonie auf Agar.

Referate.

Weber, A., Die Bakterien der sogenannten sterilisierten Milch des Handels, ihre biologischen Eigenschaften und ihre Beziehungen zu den Magendarmkrankheiten der Säuglinge, mit besonderer Berücksichtigung der giftigen peptonisierenden Bakterien Flügge's. (Arbeiten aus d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XVIII. Heft 1. p. 108—155.)

Die Frage der künstlichen Ernährung der Säuglinge ist in den letzten Jahren immer mehr in den Vordergrund getreten und der Enthusiasmus für die Ernährung mit sterilisierter Milch hat unstreitig einen Rückschlag erfahren. Daran ist schuld, daß man sich auch mit der sterilisierten Milch mehr und mehr wissenschaftlich befaßt und dadurch neben den großen Vorzügen dieses Ernährungsmittels auch die Nachteile desselben hervortreten.

Verf. hat sich die Aufgabe gestellt, die sterilisierte Milch des Handels in Berlin einer bakteriologischen Untersuchung zu unterziehen;

- 1) in Bezug auf den Keimgehalt im allgemeinen,
- 2) in Bezug auf die Lebenseigenschaften der den Sterilisationsprozeß überlebenden Bakterien,
- 3) in Bezug auf das Vorkommen der giftigen peptonisierenden Bakterien Flügge's.

Untersucht wurden 150 Flaschen sterilisierter Milch aus 8 verschiedenen Milchwirtschaften und zwar in der Weise, daß die Flaschen zunächst in den Brutschrank gestellt wurden; sich spontan zersetzende Proben wurden sofort untersucht, die übrigen nach verschieden langer Zeit des Aufenthaltes bei 37,5°.

Das Resultat war, daß aus keiner einzigen Bezugsquelle alle Proben keimfrei waren! Der Verf. hat also recht, statt von sterilisierter Milch von der „sogenannten sterilisierten Milch“ zu sprechen. Die Prozentzahl der keimfreien Flaschen war bei den einzelnen Bezugsquellen eine sehr verschiedene, sie schwankte zwischen 5 Proz. und 86 Proz. In den meisten Fällen konnte aus dem Aussehen und dem Geschmack der Milch ein Schluß auf den Grad der Sterilisation gezogen werden; wirklich keimfrei war die Milch meist erst, wenn die Erhitzung bis zur Karamelisierung des Zuckers gestiegen war.

Nach den Jahreszeiten konnte eine Verschiedenheit des Keimgehaltes nicht beobachtet werden und auch die Untersuchung künstlicher Säuglingsmilch im Gegensatz zu sterilisierter Vollmilch ergab keine Differenz.

Die spontane Zersetzung der Milch im Brutschrank trat meist schon sehr frühzeitig ein, ließ aber um so länger auf sich warten, je intensiver die Milch erhitzt war. Als spätestester Termin der

spontanen Zersetzung fand Verf. den 12. Tag, eine Zeit, die jedoch nach den Erfahrungen des Ref. häufig bedeutend übertroffen wird.

Alle nicht spontan zersetzten Proben wurden der Koch- und Alkoholprobe unterworfen, wobei sich herausstellte, daß die Alkoholprobe der Kochprobe überlegen ist, denn während 9 Flaschen auf beide Proben reagierten, hielten 27 Proben die Kochprobe ausgeronnen aber bei der Alkoholprobe. Aber auch diese letztere reicht nicht immer aus, um eine Infektion der Milch nachzuweisen, denn nicht weniger wie 6mal fand Verf. die Proben, trotz negativen Ausfalles der Koch- und Alkoholprobe, von Bakterien bewohnt.

Die aus den verschiedenen Flaschen isolierten Mikroorganismen wurden weiter untersucht und es ergab sich dabei folgendes:

Anaerobe Bakterien wurden nur 2mal in Proben gefunden, die einer wenig eingreifenden Sterilisation ausgesetzt worden waren; man kann also sagen, daß die Anaerobier in der sterilisierten Milch des Berliner Handels keine wesentliche Rolle spielen. Eine weitere Gruppe von untergeordneter Bedeutung sind die thermophilen Bakterien, da sie sich erst lebhaft zu vermehren vermögen bei Temperaturen, bei denen die sterilisierte Milch nicht aufbewahrt wird; das Wachstumsoptimum der 3 beobachteten Arten liegt zwischen 40 und 55°. Wichtig sind dagegen die übrigen Aerobier, die zum allergrößten Teile zu der Gruppe der Heu- und Kartoffelbacillen gehören. Diese teilt Weber nach ihrem Verhalten zur Milch in 3 Gruppen, nämlich 1) Bakterien, welche die Milch rasch, innerhalb 24—48 Stunden zersetzen; 2) Bakterien, welche die Milch, auch bei genügendem Luftzutritt, langsam, erst am 5.—7. Tage, verändern; 3) Bakterien, welche die Milch äußerlich überhaupt nicht verändern; alle diese Bakterien haben die Fähigkeit, das Kasein zu peptonisieren. Einige dieser Arten können außerdem noch die Milch faulig zersetzen und Schwefelwasserstoff in derselben bilden; immer geht diesem Prozesse die Peptonisierung voraus.

Es muß nun auffällig erscheinen, daß die nicht sterilisierte Milch sehr selten einer fauligen Zersetzung anheimfällt, da ja doch die peptonisierenden Organismen in ihr sehr häufig und die Schwefelwasserstoff bildenden nicht gerade selten sind. Der Grund hierfür liegt darin, daß die Säurebakterien sehr rasch den Milchezucker angreifen und die gebildete Säure eine Vermehrung der peptonisierenden Arten verhindert. Die sterilisierte Milch ist also geradezu prädisponiert zur Peptonisierung, ein Moment, welches ganz dazu angethan ist, auf das peinlichste darauf zu achten, daß die Milch für die Säuglingsernährung möglichst vollkommen sterilisiert werde.

Auch die sogenannten giftigen peptonisierenden Bakterien Flügge's wurden, allerdings nur 3mal, beobachtet, und spricht Verf. die wohl berechnete Ansicht aus, daß die Giftigkeit derselben für den Säugling weniger durch die Bakterienleiber selbst, als durch ihre Fähigkeit, rasch und energisch Eiweißfäulnis zu erzeugen, bedingt ist.

Appel (Charlottenburg).

Magnus, P., J. Bornmüller, Iter syriacum 1897. Fungi.
(Verhandl. d. k. k. zool.-botan. Gesellsch. Wien. Bd. L. Jahrg. 1900.
p. 432 ff. Mit 2 Tafeln.)

Der Autor hat in der vorliegenden Abhandlung die von Bornmüller im Jahre 1897 gesammelten Pilze bearbeitet und hiermit einen weiteren wertvollen Beitrag zur Kenntnis der Pilzflora des Orients geliefert. Es ergab sich wieder eine Anzahl neuer Formen, neuer Wirtspflanzen und bemerkenswerter Standorte. Hiervon wäre besonders hervorzuheben die neue Perisporiaceengattung *Pampolysporium*, 2 neue *Sorisporium*-Arten (*S. Pollinia* und *Bornmuelleri*) und das Vorkommen der bisher nur aus Südafrika bekannten *Puccinia Lycii* Kalchbr.

Außerdem erscheinen noch neu beschrieben: *Puccinia Saniniensis* nov. spec. (nahe verwandt mit *P. Geranii silvatici* Karst.), *Uredo Imperatae* nov. spec. (auf *Imperata cylindrica* L.; ausgezeichnet durch eine besondere Art der Ausbildung der Stylosporen), *Puccinia Libani* nov. spec. (auf *Prangos asperula* Boiss., die Art gehört in die Sektion *Pucciniopsis* Schroet., deren Repräsentanten nur Aecidien und Teleutosporen bilden; aus dieser Sektion sind bisher nur wenige Arten auf Umbelliferen bekannt geworden), *Oidium Haplophylli* nov. spec. (auf *Haplophyllum Buxbaumi* [Poir.], ausgezeichnet durch sehr lange Konidien, vielleicht zu *Erysiphe taurica* Lévl. zu stellen, die auf *Haplophyllum Sieversianum* F. auftritt), *Pleospora dissiliens* nov. spec. (die Art ist deshalb merkwürdig, weil die Asci bei Benetzung mit Wasser aufspringen, daher auch der Name „dissiliens“; nach dem Aufspringen der äußeren Schicht quillt die innere Schicht in der Richtung der Längsachse durch Wasseraufnahme stark auf, und es wurden auf diese Weise die Ascosporen aus der Mündung des Peritheciums hinausgeschoben und können nunmehr bei günstiger Gelegenheit leicht weiter verbreitet werden), *Septoria apetalae* nov. spec. (auf *Silene apetala* Boiss., erinnert wegen der Kleinheit der Stylosporen an die Gattung *Ascochyta*) und *Melasmia Podanthi* nov. spec. (auf *Podanthum lanceolatum* [W.] β *alpinum* Boiss., das vorliegende Melasmenstroma dürfte wahrscheinlich zu einem *Lophodermium Hypoderma* gehören).

Die Tafeln enthalten die Abbildungen der neu beschriebenen Formen.
Keissler (Wien).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. ARTHUR WÜRZBURG,
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Arbeiten auf dem Gebiete der pathologischen Anatomie und Bakteriologie aus dem pathologisch-anatomischen Institut zu Tübingen, hrsg. von P. v. Baumgarten. Bd. III. Heft 2. gr. 8°. II u. p. 253—415 m. 4 Steindr.-Taf. Leipzig (S. Hirzel) 1901. 10 M.

Untersuchungsmethoden, Instrumente u. s. w.

- Cropper, J.**, An easy method of mounting mosquitoes. (Journ. of tropical med. Vol. IV. 1901. No. 12. p. 199—200.)
- Frost, W. D.**, A laboratory guide in elementary bacteriology. 8, 205 p. Madison, Wis. (W. Dodge Frost) 1901. 1,60 \$.
- v. Lendenfeld, E.**, Bemerkungen zur Paraffinschnittmethode. (Ztschr. f. wissenschaft. Mikrosk. Bd. XVIII. 1901. Heft 1. p. 18—19.)
- Rosa, S. P.**, Beitrag zur Bereitung einiger kultureller bakteriologischer Nährböden. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXX. 1901. No. 4. p. 177—186.)
- Sansino, F.**, Colorazione accidentale di strobila di Taenia saginata Goeze, dovuta a Solfuro di Bismuto. (Arch. de parasitol. T. IV. 1901. No. 2. p. 222—226.)
- Wandolleck, E.**, Ein neuer Objekthalter (Universal-Centriertisch) für Mikrophotographie mit auffallendem Licht. (Ztschr. f. wissenschaft. Mikrosk. Bd. XVIII. 1901. Heft 1. p. 1—10.)
- Widal, F. et Le Sourd, L.**, La réaction de fixation de Bordet avec les bacilles morts. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1901. No. 23. p. 673.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

- Albert, E.**, Neuere Versuche mit zellenfreier Gärung. (Verhandl. d. Gesellsch. dtsch. Naturforscher u. Aerzte, 72. Versamml. zu Aachen. II. Teil. 1. Hälfte. p. 94—98.) Leipzig (Vogel) 1901.
- Bertrand, G. et Sazerac, E.**, Sur une différenciation biochimique des deux principaux ferments du vinaigre. (Compt. rend. de l'Acad. d. scienc. T. CXXXII. 1901. No. 24. p. 1504—1507.)
- Bokorny, Th.**, Gärung und Enzymwirkung, wahrscheinliche Natur der Enzyme. (Naturwissensch. Wehschr. 1901. No. 26. p. 297—303.)
- Cacace, E.**, Ueber das proteolytische Vermögen der Bakterien. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXX. 1901. No. 6. p. 244—248.)
- Casagrandi, O.**, Sulle relazioni tra bacterii proto-, meta- e paratrofi e in particolar modo sulle relazioni tra bacterii ebertyformi, pseudo-ebertyformi e forme bacteriche superiori. (Annali d'igiene sperim. Vol. XI. 1901. Fasc. 2. p. 163—172.)
- Chodat, R.**, Le noyau cellulaire dans quelques cas de parasitisme ou de symbiose intercellulaire. (Act. du Congrès internat. de botan. de 1900. p. 23—30.)
- Doemens, A.**, Betrachtungen über Hefe und Gärung. (Allg. Brauer- u. Hopfen-Ztg. 1901. No. 151. p. 1761—1763.)
- Fermi, C. e Cano-Brusco, U.**, Studio sulle relazioni che esistono fra le proprietà morfologiche e biologiche dei microrganismi. (Riv. d'igiene e san. pubbl. 1901. No. 11, 12. p. 383—394, 436—443.)
- Fuller, C.**, Notes and descriptions of some species of Western Australian Coccidae. (Transact. of the entomol. soc. of London. 1900. P. 4. p. 435—473.)
- Grüss, J.**, Ueber Oxydaseerscheinungen der Hefe. (Wehschr. f. Brauerei. 1901. No. 24—26. p. 310—312, 318—321, 335—338.)
- Guyot, J.**, Contribution à l'étude des larves de Gastrophiles (Oestrides), parasites de l'estomac du cheval. [Thèse.] Paris 1901.
- Hansen, E. Ch.**, Aus der Hefenforschung der neuesten Zeit. (Wehschr. f. Brauerei. 1901. No. 26. p. 332—335.)

- Joly, P. E.**, Souvenirs malgaches. Les moustiques. (Arch. de parasitol. T. IV. 1901. No. 2. p. 256—261.)
- van Laer, H.**, Les levures et leur action sur les sucres. (Petit Journ. du brasseur. 1900. p. 533—534.)
- Laveran, A. et Mesnil, F.**, Sur la structure du Trypanosome des grenouilles et sur l'extension du genre *Trypanosoma* Gruby. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1901. No. 23. p. 678—680.)
- Lühe, M.**, Zwei neue Distomen aus indischen Anuren. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXX. 1901. No. 4. p. 166—177.)
- Maire, E.**, L'évolution nucléaire chez les urédinées et la sexualité. (Extr. du Compte rendu du congrès internat. de botan. 1900.) 8°. 5 p. Lons-le-Saunier (Impr. Declume) 1901.
- Matruchof, L. et Dassonville, Ch.**, Sur une forme de reproduction d'ordre élevé chez les Trichophyton. (Bulet. de la soc. mycol. de France. 1901. Fasc. 4. p. 201—208.)
- Meyer, A.**, Ueber die Verzweigung der Bakterien. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXX. 1901. No. 2. p. 49—60.)
- Moreno, J. M.**, Eine neue Art von *Ascobacillus*, entdeckt im Wasser des Lozayanals bei Madrid. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXX. 1901. No. 3. p. 111—114.)
- Nakanishi, K.**, Ueber den Bau der Bakterien. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXX. 1901. No. 3—6. p. 97—110, 145—158, 193—201, 225—232.)
- Newstead, E.**, Observations on Coccidiae (No. 19). (Entomol. monthly magaz. 1901. April. p. 81—86.)
- Packard, A. S.**, Occurrence of *Anopheles quadrimaculatus* in Maine. (Psyche. 1901. No. 300. p. 191.)
- Flowright**, Observations sur la biologie de certaines Urédinées relatives à la valeur de certaines espèces biologiques. (Act. du Congrès internat. de botan. de 1900. 1901. p. 132—134.)
- Rabenhorst's, L.**, Kryptogamenflora von Deutschland, Oesterreich und der Schweiz. (2. Aufl.) Bd. I. 7. Abt. Pilze. 78 Lfg. Fungi imperfecti. Bearb. von A. Allescher. gr. 8°. p. 193—256. Leipzig (Eduard Kummer) 1901. 2,40 M.
- Saint-Remy, G.**, Contributions à l'étude du développement des cestodes. II. Le développement embryonnaire de *Taenia serrata* Goeze. (Arch. de parasitol. T. IV. 1901. No. 1. p. 143—156.)
- Weinland, E.**, Ueber den Glykogengehalt einiger parasitischer Würmer. (Sitzber. d. Gesellsch. f. Morphol. u. Physiol. in München 1900. 1901. XVI. Heft 2. p. 121.)
- Wolff, A.**, Ueber die Reduktionsfähigkeit der Bakterien einschließlich der Anaerobien. (Arb. a. d. Geb. d. pathol. Anat. u. Bakteriol., hrsg. von P. v. Baumgarten. Bd. III. 1901. Heft 2. p. 294—324.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft und Wasser.

- Lauterborn, E.**, Beiträge zur Mikrofauna und -flora der Mosel. Mit besonderer Berücksichtigung der Abwasserorganismen. (Ztschr. f. Fischerei. Bd. IX. 1901. Heft 1/2. p. 1—25.)
- Miquel, P.**, Sur l'usage de la levure de bière pour déceler les communications des nappes d'eau entre elles. (Compt. rend. de l'Acad. d. scienc. T. CXXXII. 1901. No. 24. p. 1515.)

Nahrungs- und Genußmittel, Gebrauchsgegenstände.

Fleisch.

- Stroscher, A.**, Konservierung und Keimzahlen des Hackfleisches. (Arch. f. Hygiene. Bd. XL. 1901. Heft 4. p. 291—319.)

Milch, Molkerei.

- Pasteurisation of milk and cream. (Journ. of the Board of Agricult., London 1901. Vol. VIII. No. 1. p. 31—35.)
- Tiemann, H.**, Ueber die Herstellung von Hartkäsen aus pasteurisierter Milch. (Milchztg. 1901. No. 25. p. 386—387.)

Bier, Brauerei.

Sauer, F., Verfahren zur Herstellung von Bier oder bierähnlichen Getränken unter gleichzeitiger Gewinnung von Preßhefe. (Pat. im Deutschen Reiche.) (Wechschr. f. Brauerei. 1901. No. 27. p. 346—347.)

Wein, Weinbereitung.

Ackermann, H., Die Beerenweinbereitung und die Bedeutung der Reihefe für dieselbe. (Thüringer landwirtsch. Ztg. 1901. No. 24—26. p. 193—194, 203—204, 212.)
Seufferheld, C., Das Braun- oder Rahnwerden der Weißweine und deren Wiederherstellung. (Mittel. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. 1901. No. 4. p. 60—62.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

Heuser, C., Ueber bakteriologische Reinigung städtischer Abwässer. (Verhandl. d. Gesellsch. dtch. Naturforscher u. Aerzte, 72. Versamml. zu Aachen. II. Teil. 1. Hälfte. p. 62—65.) Leipzig (Vogel) 1901.
Kramell, Stalldesinfektion durch Wasserdampf. (Ztschr. f. Veterinärkunde. 1901. Heft 7. p. 316—317.)
Reischauer, A., Vergleichende Untersuchungen über die Brauchbarkeit verschiedener Verfahren zur Ausföhrung der Wohnungsdesinfektion mit Formaldehyd. (Hygien. Rundschau. 1901. No. 12, 13. p. 577—601, 636—655.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

Bericht über die Verbreitung der Reblaus (*Phylloxera vastatrix*) in Oesterreich im Jahre 1900, sowie über die Maßregeln, welche behufs Wiederherstellung des Weinbaues getroffen wurden und die Erfahrungen, die sich hierbei ergaben. Nebst den Verordnungen und Erlassen des Jahres 1900, betr. die Reblaus. Veröffentlicht im Auftrage des k. k. Ackerbauministeriums. gr. 8°. 157 p. Wien (Hof- u. Staatsdruckerei) 1901. 2 M.
Chittenden, F. H., The destructive green pea louse (*Nectarophora destructor* Johns.). (U. S. Departm. of Agricult. Divis. of entomol. Circ. No. 43. II. Ser.) 8°. 8 p. Washington 1901.
 Currant Aphides (*Rhopalosiphum ribis*, Linn. and *Myzus ribis*, Linn. &c.). (Board of Agricult. London. 1901. Leaflet No. 68.) 8°. 5 p.
Hunger, W. T., Een bacterie-ziekte der tomaat. (Mededeel. uit 'S Lands Plantentuin.) 4°. II, 57 p. Batavia (G. Kolff & Co.) 1901.
Rodriguez Ramas (Lupus), M., Destrucción de los animales dañinos, con un artículo sobre los animales dañinos por D. Juan Ma. de Conde. 8°. 186 p. Madrid (Impr. de Antonio Marzo) 1900/1901. 3,50 Pes.
Börig, Die Fritfliege. (Biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtsch. am kaiserl. Gesundh.-A. Flugblatt No. 9.) gr. 8°. 4 p. Berlin (Parey) 1901. 0,05 M.
Schlitzberger, S., Die Kulturgewächse der Heimat mit ihren Freunden und Feinden, in Wort und Bild dargestellt. VI. Serie: Kätzchenblütige Laubhölzer. 2 Taf. (Der ganzen Sammlg. 11. u. 12. Taf.) à 51 × 78 cm. Farbdr. Mit Text. gr. 8°. 16 p. Leipzig (Amthor) 1901. 3 M.
Soll, G., Insetti dannosi alle principali piante da frutto. 8°. XIV, 250 p. Firenze (Le Monnier) 1901. 1,50 £.
de Stefani, T., Zoocécidi e cecidiosi dell' *Atriplex halimus* L. in Sicilia. (Atti d. accad. Gioenia di scienze natur. in Catania. 1900. Vol. XIII. Ser. 4.)
Stemmler, L., Die Peronospora viticola und deren Bekämpfung. (Amtsbl. d. Landwirtsch.-Kammer f. d. Reg.-Bez. Wiesbaden etc. 1901. No. 18. p. 147—148.)
Stendert, Unkrantverteilung durch Metallsalze. (Ztschr. d. Landwirtsch.-Kammer f. d. Prov. Schlesien. 1901. Heft 16. p. 601—605.)
Stewart, F. C., Rolfs, F. M. and Hall, F. H., A fruit-disease survey of Western New York in 1900. (New York agricult. experim. stat. Geneva, N. Y. 1900. Bullet. No. 191. p. 291—331.)
Timberlake, H. G., Swarm spore formation in *Hydrodictyon utriculatum* Roth. (Botan. Gaz. 1901. No. 3. p. 203.)

- v. Tubeuf, C.**, Studien über die Brandkrankheiten des Getreides und ihre Bekämpfung. (Arb. a. d. Biolog. Abt. f. Land- u. Forstwirtsch. am kaiserl. Gesundh.-A. Bd. II. 1901. Heft 2. p. 179—349.)
- , Vorschläge zur Bekämpfung des Weizensteinbrandes. (Mitteil. d. dtsh. Landwirtschafts-Gesellschaft. 1901. No. 34. p. 201—202.)
- , Ueber eine Krankheit junger Rübsenpflanzen. (Arb. a. d. Biolog. Abt. f. Land- u. Forstwirtsch. am kaiserl. Gesundh.-A. Bd. II. 1901. Heft 2. p. 350—355.)
- Volken, G.**, Ueber eine Schildlauskrankheit der Kokospalmen in Togo und auf der Karolineninsel Yap. (Notizbl. d. kgl. botan. Gartens u. Museums zu Berlin. Bd. III. 1901. No. 25. p. 85—90.)
- Weiss**, Zur Bekämpfung der Erdflöhe am Hopfen. (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1901. Heft 4. p. 31—32.)
- Wilcox, M. E.**, A rhizomorphic root-rot of fruit trees. (Oklahoma Agricult. experim. stat. 1901. Bullet. No. 49.) 8°. 32 p.
- Zimmermann, A.**, Ueber einige durch Tiere verursachte Blattflecken. (Annal. du jardin botan. de Buitenzorg. 1901. 2. sér. T. II. partie 2. p. 102—125.)
- Zirngiebl**, Insektenlarven in Früchten. (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1901. Heft 3, 4. p. 19—21, 25—28.)

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

- Hertzog, A.**, Der Rebenräucherungsdienst der Stadt Colmar i. E. (Weinbau u. Weinhandel. 1901. No. 17. p. 191—192.)
- Marlatt, C. L.**, Important insecticides: directions for their preparation and use. (U. S. Departm. of agricult. Farmers' bullet. No. 127.) 8°. 42 p. Washington 1901.
- Sirrine, F. A.** and **Stewart, F. C.**, Experiments on the sulphur-lime treatment for onion smut. (New York agricult. experim. stat. Geneva. 1900. Bullet. No. 182. p. 145—172.)
- Vermorel, V.**, Destruction des parasites du sol. Emploi du sulfure de carbone en horticulture. 8°. 39 p. Montpellier (Coulet et fils) 1901. 1,50 fr.
- Weiss, J. E.**, Harmlose Plauderei über die Wirkungsweise der Kupferbrühen gegen die Kieferschütte. (Forstwissensch. Centralbl. 1901. Heft 5. p. 244—253.)
- Windisch, K.**, Ueber die Beschaffenheit des Kupfervitriols des Handels. (Weinbau u. Weinhandel. 1901. No. 17. p. 192—193.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

- Albert, E. u. W.**, Chemische Vorgänge in der abgetöteten Hefezelle. (Orig.), p. 737.
- Conn, H. W.** and **Esten, W. M.**, The ripening of cream. (Orig.), p. 743.
- Peglion, Vittorio**, Ueber die Nematospora Coryli Pegl. (Orig.), p. 754.
- Stutzer, A.**, Ueber den Einfluß der Bakterien auf die Knochenzersetzung. (Orig.), p. 752.

Referate.

- Magnus, P.**, J. Bornmüller, Iter syriacum 1897. Fungi, p. 764.
- Weber, A.**, Die Bakterien der sogenannten sterilisierten Milch des Handels, ihre biologischen Eigenschaften und ihre Beziehungen zu den Magen-Darmkrankheiten der Säuglinge, mit besonderer Berücksichtigung der giftigen peptonisierenden Bakterien Flügge's, p. 762.

Neue Litteratur, p. 765.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Prof. Dr. J. Behrens in Weinsberg i. W.,
Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Dr. v. Freudenreich in Bern, Privatdocent
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Dr. G. Harris Morris
in London, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädenswil, Dr. Erwin F. Smith in
Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr.,
Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel
und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VII. Band.

Jena, den 1. November 1901.

No. 22.

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabszüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

The ripening of cream.

By H. W. Conn and W. M. Esten,
Wesleyan University, Middletown Ct. U.S.A.

(Conclusion.)

An interrogation point is inserted in the tables the means that the number of bacteria in question was so small as to fall below one per cent. Sometimes they were wholly absent and always too few to be included in the general averages.

The organism indicated by N. was a very common non-liquifying bacteria which produced an alkaline reaction. As shown by the tables it was always present in the unripened cream, but disappeared almost completely in a few hours (see Table VII).

The cream in the last three experiments developed a typical June aroma and flavor. In experiment of June it was partly ripe when received. In the others a great growth of liquifiers is seen in the early ripening.

Conclusions from Table VII.

The important facts shown by these tables may be briefly summarized as follows:

1. The small number of bacteria at the start in each case indicates that the cream was tolerably fresh. There was, however, considerable variation in the number at the outset, varying from a number so small as to be impossible to estimate with the dilutions used, up to about six million in the specimen containing the largest numbers. It should be stated that the different dairies tested showed a tolerably uniform difference in this respect, cream from some dairies having always a small number and that from others a larger number, a fact which was parallel with the care exercised in the handling of the cream at the dairy.

2. There is in all cases a constant and rapid increase in the number of bacteria during the ripening of the cream, continuing for 36 to 48 hours, or sometimes 60 hours. The numbers reached at the time of maximum growth, as will be seen from the tables, are enormous. In the fifth and seventh experiments, for example, within 48 hours there were a billion and a half bacteria per cubic centimeter. It should be here noticed that these numbers are far in excess of anything ever reported elsewhere for natural media. So far as we know no other natural medium ever examined by bacteriologists contains the number of bacteria found in cream ripened for 36 to 48 hours.

3. The number of bacteria present at the maximum is quite independent of the number present at the start. In the second experiment the number at the start was less than two million, but within 48 hours the number was about as great as in any other lot tested. In the first experiment the number at the start was over two million, while the maximum number was only about one-quarter that of experiment No. 2. Some of the other experiments illustrate the same thing. The conditions which regulated the number present at the maximum we have as yet been unable to determine.

4. After reaching a maximum in about 48 hours there is a universal decrease in numbers of bacteria. The numbers fall off during the next few hours, and by the 70th hour may have decreased to a comparatively few millions. This has been universally the case in all experiments. In one or two cases the cream was kept for several days longer and a bacteriological examination made after it was a week old. In these samples the bacteria had

Table VII. Variations in percentage of types of bacteria during ripening.

Date	Age of cream	Total No. Bacteria	Liqui- fying bacilli	N.	B. 206	B. 208	Miscel- lanous	B. 202
			Per cent	Per cent	Per cent	Per cent	Per cent	
March 1901	Fresh	2 300 000	4,5	88,0		7,5		
	12 hours	47 000 000	2,0	16,0	23,2	37,4	21,4	
	24 "	261 000 000	1,4	15,0	50,5	21,9	11,2	
	36 "	417 000 000	0,9	2,4	84,1	1,2	9,0	2,4
	46 "	56 800 000	1,6	11,3	84,8	0,8	1,0	0,5
	70 "	68 000 000	?	0,7	98,5	?	0,8	
April 1901	Fresh	1 700 000	10,7	81,0	6,1	2,2		
	12 hours	79 000 000	1,6	12,8	76,5	3,1	6,0	
	24 "	1)	—	—	—	—	—	—
	36 "	911 000 000	—	0,3	99,4	0,3	—	—
	48 "	605 000 000	0,1	0,7	99,2	—	—	—
	60 "	317 000 000	?	?	97,5	?	?	2,5
	72 "	438 000 000	?	?	96,5	?	?	3,5
	84 "	408 000 000	?	?	94,0	?	?	6,0
April 1901	Fresh (12hrs.)	6 700 000	2,4	35,5	56,1	0,7	5,3	
	12 hours	66 600 000	0,1	17,3	72,0	11,0	9,1	
	24 "	280 000 000	0,46	10,7	78,6	2,1	8,2	
	36 "	450 000 000	?	3,9	83,3	1,5		11,3
	48 "	905 000 000	?	2,8	89,3	0,6	?	7,3
	60 "	666 000 000	?	1,7	89,7	0,5	?	8,2
	72 "	555 000 000	?	2,2	87,3	?	?	10,5
	84 "	553 000 000	?	0,75	77,0	?	?	22,3
Febr. 1901	Fresh (3 hrs.)	195 000	6,4	66,2	6,2	7,6	13,6	?
	12 hours	4 750 000	11,8	70,2	5,1	1,8	11,1	?
	24 "	59 000 000	2,1	33,8	37,4	5,1	21,4	?
	36 "	528 000 000	0,1	4,7	90,2	5,0	?	?
	48 "	1 023 000 000	0,17	2,15	93,6	3,15	?	1,0
	60 "	994 000 000	0,07	0,9	93,2	3,0	?	2,9
	72 "	687 000 000	0,1	1,8	86,0	2,3	?	9,4
	84 "	420 000 000	0,6	2,0	82,3	1,1		14,0
March 1901	Fresh	44 000	8,0	53,0	16,8	9,0	13,2	?
	12 hours	309 000	7,3	34,7	41,0	5,9	11,1	?
	24 "	14 200 000	11,8	31,4	29,0	12,4	15,4	
	36 "	303 000 000	0,9	7,6	65,0	17,3	7,2	2,0
	48 "	1 500 000 000	0,1	0,5	86,7	5,8	?	6,6
	60 "	1 344 000 000	?	2,5	88,6	1,3	?	9,8
	72 "	1 245 000 000	?	?	89,0	?	?	11,0
	84 "	774 300 000	?	?	89,5			10,5
May 1901	Fresh	385 000	10,0	22,0	31,2	8,0	3,0	
	12 hours	4 300 000	11,1	22,0	61,0	2,0	3,9	
	24 "	92 000 000	1,0	13,5	58,5	6,4	5,0	16,5
	36 "	440 000 000	0,2	0,3	69,0	1,0	?	29,5
	48 "	551 000 000	?	?	69,0	?	?	31,0
	60 "	?	?	?	60,0	?	?	40,0
	72 "	342 000 000	?	?	58,0	?	?	42,0
June 1901	Fresh	36 000 000	0,2	29,0	55,0	2,5	13,2	
	12 hours	406 000 000	?	3,8	76,6	2,3	?	17,3
	24 "	1 082 000 000	?	1,4	80,9	1,2	?	16,5
	36 "	1 663 000 000	?	0,6	86,1	0,5	?	12,8
	48 "	759 000 000	?	0,7	90,9	0,4		3,0
	60 "	569 000 000	?	0,8	66,5	0,8		32,7

1) Too many liquifiers.

Date	Age of cream	Total No. bacteria	Liqui- fying bacilli	N.	B. 206	B. 208	Miscel- lanous	B. 212
			Per cent	Per cent	Per cent	Per cent	Per cent	Per cent
June 1901	Fresh	150 000	?	40,0	6,6	17,0	36,0	
	12 hours	3 000 000		Liquifiers prevent determination				
	24 "	129 000 000	8,9	?	77,5		14,4	
	36 "	664 000 000	1,4	?	92,5	1,8	2,4	1,9
	48 "	861 000 000	0,9	?	89,8	1,1		8,2
	60 "	202 000 000	0,2	?	80,0	1,1		19,0
	72 "	89 000 000			68,3	0,7		31,4
June 1901	Fresh	34 000	8,0	11,0	6,0	?	75,0	
	12 hours	2 000 000		Liquifiers prevent determination				
	24 "							
	36 "	412 000 000	1,5	2,4	80,0	11,4	4,7	
	48 "	914 000 000	1,1		86,4	7,8		
	60 "	782 000 000	0,6		87,8	7,2		4,6
	84 "	307 000 000			75,4	2,4		22,2

nearly all disappeared, a few acid forms alone remaining, and the cream had become a nearly pure culture of the well known *Oidium lactis*. The explanation of this disappearance of bacteria we are unable to give.

5. In all experiments the number of liquifying bacteria at the start was quite large, the proportion being from 2 to 10 per cent. These bacteria apparently increase for a few hours, at least in some of the experiments; but after about 12 hours they decrease in proportion, and in the later periods of ripening become so few as to be incalculable, or disappear entirely. In most of the tests of completely ripened cream no traces of liquifying bacteria were found.

6. The species of bacteria indicated by N. in the third column of the tables appears to have a very peculiar relation to the dairies of this vicinity. It is in all cases very abundant in the fresh cream, the smallest proportion noted being 11 per cent and the largest 88 per cent. In every test, however, the proportion of this species of bacteria decreased with the successive plates and became very small in the later periods of ripening. It did not seem to disappear absolutely, for even in the late periods of ripening a few colonies of bacteria N. could be found, but the number was so small as to be inappreciable in the percentages.

7. The group of bacteria which we have here called miscellaneous, including the several species which do not produce acid nor liquify gelatin, was, in all cases, somewhat large at the outset, varying from 5 to 75 per cent, but regularly decreased in numbers, and in the late periods of ripening entirely disappeared.

8. The most characteristic feature of cream ripening consists in the growth of *B. acidilactici* (206). This characteristic lactic bacillus is found in very small numbers in fresh milk and cream. In other experiments, not recorded here, it has been found that in perfectly fresh milk the number of this species of bacteria is extremely small, indeed, so few of them are present that they can

be found in only a small percentage of the samples of freshly drawn milk. In the cream which we have tested the numbers were at the outset always small, in some cases so few that we could not find them at all with the dilutions which we were obliged to use. In the different samples the proportion was quite variable but always small. With the successive hours of ripening the number of the bacteria of this species increased with perfect regularity, until at the time when the number of organisms in the cream was at its maximum, the proportion of No. 206 had reached usually about 90 per cent and sometimes more. This, of course, meant enormous actual numbers, for 90 per cent of the many millions found is a very large number.

9. The *B. lacti aërogenes* has a peculiar relation to the ripening cream. It is always present in small proportions; it appears neither to increase nor to decrease with any regularity during the ripening, being usually found at the outset in small numbers and at the close of the ripening in similar small numbers. Although the percentage did not regularly increase or decrease there was a constant slight increase in actual numbers.

10. The lactic bacterium No. 202 appears to be quite characteristic in these dairies. It was rarely found in fresh cream, doubtless because of its small numbers, made its appearance after a few hours, and in practically all cases began to increase somewhat after 36 to 48 hours, being commonly present in larger proportion at the close of the experiments than at the beginning.

11. From these facts it will be seen that in old, well ripened cream we have a nearly pure culture of two species of lactic bacteria, No. 206 and No. 202. The immense numbers given in the first column consisted commonly of over 98 per cent of these species; the others being quite incidental. It is of course to be noted that the maximum numbers which we have obtained represent cream that was somewhat older than normally ripened cream, but practically the same facts are true of the normally ripened cream, as shown by the previous tables.

From these facts it would at first appear that the ripening of cream is to be attributed wholly to be acid bacteria. Certain it is that these bacteria are the ones which grow most abundantly during the ripening and are present in large proportion at its close. We were at first inclined to believe therefore that the ripening of cream is to be attributed to the lactic organisms alone. Further consideration, and some further experiments, have led us to doubt this, without leading us yet to any definite conclusion. It will be noticed that during the first few hours of ripening, i. e., during the hours in which the cream is separating from the milk by the gravity method and the 12 hours following, other bacteria than the lactic species have been multiplying. Cream that is 24 hours old from the time the milk is drawn from the cow contains a vast proportion of miscellaneous bacteria and only small number of acid bacteria. It is certain that a considerable part of the cream ripening must have occurred before this time, and that the later

ripening of the cream simply completes the process. Up to this time the lactic bacteria have been so few that they could have had little or no effect upon the cream. All of the changes then in the first 12 to 20 hours must be attributed to other bacteria than the acid organisms. Moreover, it will be seen from the tables that, though the percentage of miscellaneous bacteria constantly decreases, their numbers actually increase for a while. For example, the liquifying bacteria in the fifth experiment were present in the following numbers in the first five tests; 35 500, 21 000, 1 540 000, 2 700 000, 1 500 000. The actual numbers have been increasing although the proportion has decreased from 8 per cent to 0,1 per cent. In one or two experiments on June butter the increase of liquifiers in the first 12 hours was much larger, so great indeed that it was impossible to estimate the number of bacteria on the plates because of the complete liquifaction of the gelatin. These facts of course show that during the first 12 hours of ripening other bacteria than the acid bacteria are multiplying and must produce an influence upon the cream. It would seem, therefore, that the ripening of cream must consist of two phases. The first comprising the first 12 hours or more of ripening and due to the growth of miscellaneous bacteria; the second beginning after 12 hours and due almost wholly to the growth of lactic bacteria. These considerations lead us to believe that the ripening is not wholly a factor of acid bacteria, but upon this matter we recognize more experimentation is needed.

General summary.

We may now give a general summary of the conclusions which were drawn from the long series of experiments above detailed in regard to the actual bacteriological development that occurs during the normal ripening of cream.

1. Milk as it is drawn from the cow contains great quantities of bacteria; most of these are miscellaneous forms of liquifying bacteria and other non-acid species. At the outset the number of acid bacteria is very small.

2. All species of bacteria increase during the setting of the milk for the separation of the cream.

3. For a few hours the alkaline bacteria, and the others which have here been included under the head of Miscellaneous, increase quite rapidly, while the lactic bacteria are hardly evident.

4. After about 12 hours the lactic bacteria have increased so much as to be as numerous as the others, and from this time on they continue to increase with great rapidity until a maximum is reached at about 48 hours; after this the numbers gradually decrease and they finally practically disappear.

5. The ripened cream contains prodigious numbers of bacteria, larger numbers than are known in any other natural medium. They are, however, nearly all lactic bacteria.

6. After the first 12 hours all species of bacteria except the two lactic species decrease in relative numbers and finally absolutely disappear.

7. The two common species, Nos. 206 and 202, increase regularly from the beginning of experiments until the maximum. No. 208 is always present in considerable quantity and during the ripening increases its numbers though not increasing in proportion.

8. The cream which is received by a creamery is already half ripened, as indicated by the immense numbers of bacteria it contains. All of the changes which occur in the cream under the influence of the miscellaneous bacteria have already occurred, and the ripening that takes place in the creamery is due wholly, or almost wholly, to the growth of the lactic bacteria.

9. A ripened cream is almost in pure culture of acid bacteria, but this does not mean that ripening has been produced by these acid bacteria alone.

10. That the lactic bacteria play an important part in the ripening is perfectly evident; that they are the sole cause of the changes occurring in the ripening is not so evident.

11. The peculiar flavor of June butter, which is so much desired by the butter maker, is not due to the development of the common lactic bacteria. Butter ripened during the winter months develops the two species of lactic bacteria as abundantly and as quickly as does that ripened in June, but the flavor does not make its appearance. In the last three experiments recorded the June flavor was very noticeable in the cream, but the development of the acid bacteria, or the two species referred to, was practically the same as in all of the previous experiments. The June flavor, therefore, cannot be due to these common lactic bacteria.

12. To what this June flavor is due we are not as yet satisfied. Whether it will prove to be due to the large growth of miscellaneous bacteria during the first few hours of ripening, or whether it is due to a difference in the chemical nature of the cream, remains for further experiments to decide.

Nachdruck verboten.

Ueber Leben, Natur und Nachweis des Hausschwammes und ähnlicher Pilze auf biologischem und mikro- skopisch-mikrochemischem Wege.

Von **G. Marpmann**, Leipzig.

Die Pilze bedürfen wie die Tiere großer Mengen von Sauerstoff zu ihrem Wachstum und wachsen bei Lichtabschluß, da sie kein Chlorophyll besitzen, auch im Innern von Holz oder Pflanzen, doch wird die Fruktifikation durch Licht begünstigt. Das Wachstum wird durch stickstoffreiche Nahrung gefördert, da die Myceläden

reich an Eiweißstoffen sind. Ist der Nährkörper, wie das Holz, arm an Eiweißsubstanzen, so geben die älteren Pilzteile ihre Protein-substanz wie ihr Plasma an die wachsenden Spitzen des Myceliums ab, so daß die älteren Teile absterben oder ein fortdauernder Nachschub an die jüngeren Teile stattfindet. Im Holz zeigen dann die zahlreichen Löcher in den Rindenteilen an, wie viel Pilzhyphen im Laufe der Krankheit in die Holzfaser gedrungen sind, während oft von diesen selbst keine Spur mehr zu finden ist.

Man teilt auch heute noch die Pilze in zwei Gruppen ein, in Fäulnisbewohner, Saprophyten, die auf abgestorbenen Pflanzen und Tieren leben, und Parasiten oder Schmarotzer, welche lebende Organismen angreifen, von diesen sich ernähren und die Wirte krank machen oder töten, obgleich schon Hartig vor ca. 30 Jahren auf die Unhaltbarkeit hingewiesen hat, da die meisten Parasiten auch dann noch von den Leichen weiter leben, nachdem sie von den Lebenden ihre Käftung geholt hatten, so daß die meisten Parasiten im zweiten Stadium ihrer Entwicklung zu Saprophyten werden. So ist z. B. der *Agaricus (Armillaria) melleus* L. für die Abietineen und einige Laubbäume ein echter Parasit, dessen Mycel als Saprophyt in verbaute Holz weiter lebt und die Holzteile von Brücken, Brunnenröhren, Bergwerken etc. zerstört.

Ins Innere der Nährpflanze gelangen die Pilze dadurch, daß die Sporen äußerlich keimen und daß der Keimschlauch durch die Spaltöffnungen, oder die Epidermis der Blätter und jungen Rinde und Wurzel oder durch Wundflächen ins Innere dringt, um hier das Mycelium zu entwickeln.

Bekannt sind als Wurzelbewohner:

Agaricus melleus L.
Trametes radiciperda
Polyporus annosus;

als Holzbewohner:

<i>Trametes pini</i>	für Nadelholz
<i>Polyporus fulvus</i>	"
" <i>destructor</i>	"
" <i>mollis</i>	"
" <i>pinicola</i>	"
" <i>borealis</i>	"
<i>Telephora lacinia</i>	"
<i>Polyporus hybridus</i>	für Eiche
" <i>sulfureus</i>	"
" <i>igniarius</i>	"
<i>Daedalea quercina</i>	"
<i>Telephora Perdix</i>	"
<i>Stereum hirsutum</i>	"

als Rinde- und Bastbewohner:

Peridermium pini für Nadelholz
Caecoma pinitorquum " "

als Holzbewohner für verschiedene Pflanzen, Coniferen, Weiden, Eichen, Birken, Buchen:

Trametes suaveolens
Polyporus betulinus
 „ *fomentarius*
 „ *marginatus*
 „ *vaporarius*
Merulius lacrymans

Andere Parasiten aus den Gruppen der Brand- und Rostpilze etc. sollen hier nicht berücksichtigt werden.

Von diesen Pilzen ist der Hausschwamm derjenige, welcher am meisten gefürchtet wird. Dieser Pilz zerstört die Balkenlagen und Holzteile der Wohnungen und Bauwerke und hat insofern ein Interesse für uns, als der Nachweis des echten Hausschwammes häufig für gerichtliche Entscheidungen gefordert wird. Nachgewiesener Hausschwamm befreit den Käufer eines Hauses von seiner Verpflichtung, macht also den Kauf rückgängig. Es ist jedoch nicht alles vermoderte und verschimmelte Holz gleichartig, es ist wohl Schwammholz, es ist auch das Pilzmycel vorhanden — aber nicht jedes Schwammholz und nicht jedes Pilzmycel rührt von dem Hausschwamm, *Merulius lacrymans*, oder nach Engler *Serpula lacrymans* her. Hat man Holz mit lebendem Pilzmycel, so ist der Nachweis des Hausschwammes nicht schwer, ist aber das Holz eingetrocknet und der Pilzrasen zusammengeschrumpft, so läßt sich weder makroskopisch noch mikroskopisch ein sofortiger Unterschied zwischen den Mycelien des *Merulius* und denjenigen der oben angeführten Holzzerstörer feststellen. Um dieser Frage näher zu treten, sei eine Beschreibung des Hausschwammes nach O. E. R. Zimmermann vorausgeschickt.

Der Hausschwamm *Merulius* hat folgende systematische Stellung:

I. Eumycetes, echte Pilze.

1. Basidiomycetes — a) Eubasidii.

α) Autobasidiomycetes = die Basidien nicht quer oder längs geteilt, mehr oder weniger keilig.

Familie: Polyporen. Gattung: *Merulieae* mit flachgrubigem Hymenophor.

Art: *Merulius tremellosus*, an alten Baumstämmen

„ *aureus*, an alten Baumstämmen

„ *lacrymans* im Hause, selten an Baumstämmen im Walde
Poria vaporaria im Hause, Lohschwamm

Der Hausschwamm durchdringt bei hinreichender Feuchtigkeit sämtliche Holzteile, die ihm zugänglich sind, und ist imstande, die Feuchtigkeit auf weite Strecken zu transportieren und an geeigneter Stelle abzuladen, so daß hierdurch die rapide Zerstörung der Holzfaser beschleunigt wird. Die Ausscheidung des flüssigen Wassers in Thränenform geschieht in so ausgiebiger Weise, daß Holz und Mauerwerk feucht und die betreffenden Wohnräume ungesund werden. Am verderblichsten wirkt der Pilz, wenn er mit Wasser in unmittelbare Verbindung tritt und dasselbe aus dem nassen Untergrund, Mauerwerk oder Holz direkt entnehmen kann. War das verwendete Holz trocken und nur die Luft feucht, so wird die Zerstörung langsam vorschreiten und ganz aufhören, sobald die Luft trockner geworden ist.

Der Hausschwamm vermag seine Nahrung lediglich aus dem Holze zu entnehmen, die im Boden, Mauerwerk und Fällung oder Luft vorhandenen Nährstoffe hat er nicht nötig, und wenn er solche, wie z. B. Kalk, in größerer Menge aufgenommen hat, so scheidet er dieselben bald wieder aus. Im wesentlichen lebt der Pilz vom Holz und hier wird er sich um so kräftiger entwickeln, je mehr Eiweißstoffe im Holz vorhanden sind, deshalb entwickeln sich die Pilzhyphe hauptsächlich in den Markstrahlen und diese erscheinen dann in dem befallenen Holz bald völlig geleert. Während manche Pilze, z. B. *Peridermium Pini*, die durchwachsenen Pflanzenzellen nicht völlig aussaugen und daher auch nicht abtöten, sondern nur geringe chemische Einwirkungen ausüben, wie die Umwandlung der Stärkezellen in Harz, zerstören andere, wie *Trametes Pini*, die Wandungen der Holzzellen, speziell die mittlere Celluloseschicht, während die innere Grenzhaut der Zerstörung längere Zeit widersteht. Andere Pilze bewirken sofortiges Absterben, nachdem die Mycelspitzen in die Zellen oder Interzellularräume eintreten.

Der Hausschwamm besitzt eine große Vorliebe für das Coniferin und für die Cellulose, dagegen werden die Gerbstoffe, Gummi und Harze nicht angegriffen. Sobald man die Verbindung des an Mauerwerk oder auf dem Boden wachsenden Pilzes mit dem Holz unterbricht, stirbt der Pilz ab.

Das vom Pilz durchwachsene Holz nimmt eine braune Färbung an, unter Substanzverlust, womit eine Volumverminderung des Holzes einhergeht, das Holz schwindet und fällt zusammen. Die Zellwände verdünnen sich und es entstehen Risse, welche die Fläche nach allen Seiten durchsetzen.

Aufliegende Bretter oder freiliegende Balken können immer nur an der Seite zerstört werden, welche der Luft nicht ausgesetzt sind, weil schon eine geringe Luftströmung die Mycelien austrocknet und den Pilz zum Absterben bringt. So kommt es, daß die Dielen und Bretter, die von ihm zerstört werden, sich krümmen und emporwölben, dabei wird die Substanz des Holzes schmierig und im trockenen Zustande spröde und leicht zerreiblich.

Dabei entwickelt sich aus dem lebenden Mycel ein angenehmer Geruch, der aber — sobald der Pilz abstirbt, und das geschieht sofort nach der Entwicklung größerer Rasen — in einen höchst übelriechenden Duft übergeht.

So ist der Hausschwamm nicht nur ein Zerstörer des Holzwerkes in unseren Wohnungen, sondern auch ein Beweis dafür, daß diese feucht und ungesund sind, und transportiert dann selbst auch mehr Feuchtigkeit in die Räume von außen, entwickelt einen unangenehmen Geruch und macht sich daher aus mehr denn einem Grunde als recht unangenehmer Gast bemerkbar.

Es kommt vor, daß der Schwamm aus einer Wohnung nach kurzer Zeit von selbst verschwindet, sobald sich Luftcirculation aus irgend welchen Gründen eingestellt hat.

Wächst aber der Pilz unter günstigen Verhältnissen, so drängen sich nach kurzer Zeit die Pilzlager an die Außenseite und suchen

Licht zu gewinnen, denn nur unter Lichtwirkung findet dann die Sporulation statt; es entwickelt sich ein Fruchtlager mit faltig-grubiger Oberfläche und auf diesen die Basidien mit keulenförmiger Anschwellung, jede Basidie trägt vier farblose Sterigmen und an diesen sitzen die 4 Sporen, reif bräunlich von 10μ Länge und $4-5 \mu$ Breite. In vom Hausschwamm durchzogenen Räumen lagern sie oft zu Milliarden auf den Möbeln und bilden oft dicke Staubschichten von gelbbrauner Farbe, welche durch den Staub der Luft in die Atmungswege der Menschen gelangen und dadurch gesundheitsschädlich einwirken.

Auf Harngeatine keimen die Sporen, auf Holz, welches mit Harn befeuchtet ist, entwickelt sich die Spore, sowie auch das lebensfähige Mycel.

Da sich die Anwesenheit von Pilzmycel durch das Mikroskop sehr leicht feststellen läßt, so kommt es nunmehr an auf die Entscheidung der Frage, ob das gefundene Mycel dem *Merulius* oder einem anderen Pilz zukommt.

Es ist von einigen Seiten betont, daß der Hausschwamm zuerst die Tüpfel des Coniferenholzes zerstört, und daß die kranke Zellwand andere Polarisation zeige als die gesunde. Beide Annahmen können jedoch nicht richtig sein, wenigstens nicht zur Unterscheidung verschiedener Pilze dienen, weil manche Pilze die Holztüpfel noch schneller zerstören, als der *Merulius*, und weil die Polarisation der Celluloseschicht nicht von der Art des Pilzes, sondern von der Art der Zerstörung abhängig ist, also von den mehr oder minder weit vorgeschrittenen Entwicklungen und Zersetzungen der Pilzmycelien. So folgt, daß man aus dem mikroskopischen Bilde noch keinen Schluß auf die Art des zersetzenden Pilzes ziehen kann. Auch die chemische Reaktion, soweit sie bisher angewendet wurde, giebt nicht immer einen Beweis für Mycelien von Hymenomyceten, da auch andere Pilze als Holzzerstörer die gleichen chemischen Reaktionen geben können. So kann man wohl gesundes Holz von Schwammholz durch die bekannten Reagentien unterscheiden, und sei hier auf eine Zusammenstellung dieser hingewiesen, welche in der *Pharmac. Centralhalle*. 1901. No. 3 veröffentlicht ist.

Verf. versucht den Nachweis von *Merulius lacrymans* in Bauholz auf mikrochemischem Wege zu geben und führt eine Reihe von Reaktionen mit gesundem Holz gegen Schwammholz an; wir vermissen jedoch die Angabe, ob unter Schwammholz ein speziell von *Merulius lacrymans* infiziertes Holz verstanden ist oder wie der Name im allgemeinen ausdrückt, ein von irgend einem unbekanntem Pilz befallenes Holz. Die Resultate obiger Versuche sind nach der *Pharmac. Centralhalle* folgende (s. Tabelle I p. 780).

Neben diesen mikrochemischen Reaktionen führt Verfasser noch solche an, die mit Auszügen des Holzes im Probierröhrchen erhalten wurden.

I. Mikrochemische Reaktion.

Reagens	Gesundes Holz	Schwammholz
Jodol + verdünnte HCl oder H ₂ SO ₄	frisch: blaukarminrot kons., in Alkoh. + Glycerin } bald verblässend	die angegriffenen Stellen: gelb bis gelbbraun
Chlorzinkjod oder Jod + Schwefelsäure	frisch: gelb kons.: "	die angegriffenen Stellen: in ca. 1/2 Std. blauwerdend und die Farbe 5 Tage haltend
Nessler's Reagenz	Markstrahl: gelb bis citronengelb Zellwand: gelb bis citronengelb Mittellamelle: dunkelgelb	die angegriffenen Stellen: braun bis braunschwarz, die anscheinend gesunden Stellen: graugelb, später grau.

II. Makrochemische Reaktionen.

Die Holzproben werden mit 1:5 Wasser einige Stunden im Wasserbade digeriert, heiß filtriert und je 50 ccm des Filtrates mit je 5 ccm der Reagenzlösung versetzt.

Reagens	Probe	Gesundes Holz	Wurmholz	Schwammholz	Faulholz
1) Nessler's Reagenz	Niederschlag überstehende Flüssigkeit	gelbgrau hellgelb	graugelb hellgelb	grau braungelb	graugelb grünlichgelb
2) Silbernitrat 1:100 Wasser mit Ammoniak gelöst, schwach alkalisch.	Niederschlag Flüssigkeit	spiegelartig grau undurchsichtig	grau schmutziggelb	Silberspiegel rotbraun	grauschwarz Beschlag vom Glase rot
3) Fehling'sche Lösung nach d. Kochen	Niederschlag Flüssigkeit	rot grünlichgelb	rotbraun gelb	braun rotgelb	blaugrün grünlichgelb

Außerdem zeigte sich, daß frisches Holz von Kiefer, Fichte, Tanne, Eiche und Pappel mit dem Nessler'schen Reagens nur die Gelbfärbung gab, während bei Schwammholz immer nur Graufärbung eintreten sollte, und sei hierzu bemerkt, daß doch ein altes schwammiges Holz wohl immer grau bis braun gefärbt ist und daher eine derartige Reaktion nicht mehr gut zu erkennen sein dürfte. Es ist daher anzunehmen, daß die vorstehenden Proben mit grünem, frisch infizierten Holz angestellt sind und hierfür dürfte in der Reaktion ein gutes Hilfsmittel für den Bauherrn gefunden sein, um zu verhindern, daß ein schwammiges Holz überhaupt zum Bau benutzt wird.

Es scheint nicht so, als ob man durch die von der Ph. C. angegebenen mikro- und makrochemischen Reaktionen einen bestimmten

Nachweis des *Merulius lacrymans* führen könnte. Die mikrochemische Reaktion deutet auf den Zerfall der Ligninsubstanz und der Cellulose — wie sie durch viele Pilze bewirkt wird. Eine Zerstörung des Coniferins und Abielins könnte man bei Coniferenholz versuchen nachzuweisen. Die Schnitte werden mit Schwefelsäure befeuchtet und zeigen an den Stellen, wo Coniferin vorhanden ist, eine violette Färbung, ebenso mit Orcin und Schwefelsäure, während die Cellulose ungefärbt bleibt und Lignin mit Schwefelsäure und Orcin dunkelrot gefärbt wird. Es wäre möglich, durch diese Reaktionen den *Merulius* festzustellen, aber nur im Tannenholz, während die coniferinfreien Hölzer die Reaktion nicht geben würden. Nur das gesunde Coniferenholz färbt sich mit Schwefelsäure violett, an den Stellen, wo Coniferin liegt, und das von *Merulius* befallene Holz zeigt die Färbung nicht, weil der Pilz zuerst das Coniferin verzehrt, dann Cellulose und Lignin resorbiert. Es bleibt also nur die biologische Probe für die Entscheidung, ob nun in der That das Schwammholz aus *Merulius*- oder *Polyporus*-, *Trametes*-, *Agaricus*- etc. Wucherungen hervorgegangen ist. Da die Myceläden selbst bald absterben, die Sporen jedoch unter günstigen Bedingungen längere Zeit lebend bleiben, man will dieselben nach 40 Jahren noch zum Keimen gebracht haben, so dürfte zuerst die Frage interessieren, ob die vorhandenen Schwammhölzer bereits an dem abgelaufenen Infektionsprozeß stehen, oder ob das Mycel des Pilzes noch in Entwicklung begriffen ist und weitere gesunde Stellen des Holzes zerstört, oder endlich, ob der Prozeß nur ruht und unter günstigen Bedingungen wieder neu belebt werden kann. Um diese Fragen zu entscheiden, ist eine Kultur des Pilzes zu versuchen und es ist dann die weitere Entscheidung leicht zu geben, ob der Schwamm schädlich ist oder nicht.

Es kommt häufig vor, daß die Fußböden und Wandbekleidungen schwammig werden, daß jedoch dieser Schwamm sich nicht auf die übrigen Hölzer, Balken u. s. w. verbreitet, weil es nicht der Hausschwamm, *Merulius lacrymans*, sondern ein anderer der oben erwähnten Pilze ist, dessen Mycel und Sporen entweder aus dem Füllboden oder aus krankem Holz eingebracht wurden. In diesen Fällen genügt eine einfache Reparatur, Ausreißen der schadhafte Bretter und Beschalungen des Füllbodens und Bestreichen der Wände mit Formalin, dann Einsetzen frischer, gesunder Bretter. Auch wird ein Fußboden dadurch schwammig, daß die Bewohner die Bretter mit Harn infizieren, daß kleine Kinder etc. den Harn ablassen und dieser dann durch die Fugen der Dielen in den Füllboden einsickert. Hier entsteht unter Umständen auch Schwammholz, und auch in diesen Fällen ist es leicht, die Infektion zu beseitigen. Daher ist es nicht richtig, daß man sagt „Schwammholz ist Schwammholz, es zerstört die Holzteile der Wohnung und daß eine ist so schädlich als das andere“ — hier muß der Unterschied gemacht werden. Wie bemerkt, soll man versuchen, die Schwammhölzer in frische Kultur zu bringen. Man nimmt eine größere Menge des teils morschen, teils noch gesunden Holzes, zerkleinert dasselbe, damit die gesunden Teile auch überall mit den kranken Teilen zu-

sammenkommen und befeuchtet dasselbe mit frischem Harn, dann packt man die feuchte Masse in Blechdosen, die zur Hälfte oder zwei Drittel angefüllt und mit dem Deckel verschlossen werden. Zeigen sich nach einigen Tagen bis Wochen weiße Pilzhypphen, so impft man davon auf sterile Harn-Pepton-Gelatine und beobachtet das weitere Wachstum. Ist diese Kultur aufgegangen, so impft man gesundes Tannenholz mit der Probe und legt die Holzscheiben in sterile Glasdosen und befeuchtet mit sterilem Wasser.

Bei diesen Kulturen beobachtet man dreierlei:

- 1) die Entwicklung des spezifischen Geruches;
- 2) die mikroskopische Entwicklung der Hypphen in dem gesunden Holze, Markstrahlen der Schnittprobe;
- 3) die Entwicklung eines sporifizierenden Fruchtlagers, wenn es gelingt, die Kultur gegen Verseuchung durch andere Pilze so lange zu schützen, bis sich eine Sporenschicht gebildet hat.

Der moderate Geruch des Schwammholzes tritt in den ersten Tagen nach der Probe in der Blechdose auf, jedoch kommt auch bei *Merulius* nicht immer der spezifische Hausschwammgeruch zur Entwicklung, weil sich in dem feuchten Harn bald ammoniakalische Gase entwickeln und den eigentlichen Schwammgeruch verdecken. Dagegen finden wir den Geruch in der Reinkultur auf Holz. Man könnte nun mit diesem Holz die von der Ph. C. empfohlenen Reaktionen anstellen, doch dürften dieselben überflüssig sein, weil man auf den ersten Blick erkennen kann, ob in der Probe das Pilzmycelium gewachsen ist — oder nicht. Es ist auch in der Natur nicht schwer, ein Schwammholz von einem Wurmholz zu unterscheiden. Dagegen kann ein Holz wohl durch Chemikalien so zerstört sein, daß es den Eindruck eines Schwammholzes machen könnte, — aber solche Stellen dürften doch in der Regel sehr lokalisiert bleiben und dadurch den Gedanken an Hausschwamm zurückdrängen. Ebenso verhält es sich mit solchem Holz, welches durch trockene Hitze oder durch heiße Wasserdünste zerstört wurde, auch dieses ist äußerlich leicht zu diagnostizieren.

Hat man durch die biologische Reaktion den Pilz und durch die Fruktifikation den *Merulius* festgestellt, so ist die Untersuchung zum Abschluß gebracht, doch dauert eine solche oftmals 3—4 Monate und länger. Auch die anderen Pilze können fruktifizieren, aber der Vorgang geht nicht so leicht von statten, als bei dem *Merulius*, schon aus dem einfachen Grunde, weil die meisten anderen Pilze neben Feuchtigkeit mehr Luft und Licht bedürfen, als gerade unser Hausschwamm. Hierin liegt ein Vorteil für die Kultur des letzteren, denn die Mycelien der Agaricinen und der meisten Polyporeen gehen nach kurzer Zeit in dem Kulturtopf zu Grunde, wenn man die Blechdose so nennen darf.

Zusammenfassende Uebersichten.

Nachdruck verboten.

Die Assimilation des freien, elementaren Stickstoffes.

Zusammenfassende Darstellung nach der einschlägigen Litteratur.

Von Stabsarzt Dr. E. Jacobitz,
kommandiert zum hygienischen Institut der Universität Halle.

Der Stickstoff, der als freies Element $\frac{4}{6}$ der uns umgebenden Atmosphäre ausmacht, findet sich in gebundenem Zustande nur in geringer Menge in der Natur vor, und zwar im Ammoniak, in der salpetrigen, in der Salpetersäure und in den Salzen dieser chemischen Körper. Mit diesen nimmt er an dem Kreislauf des Lebens teil. Hauptsächlich die verschiedenen Verbindungen der letztgenannten Säure sind es, die aus dem Boden von den Pflanzen aufgenommen werden. In denselben trägt das Nitrogenium mit zur Bildung mehr oder weniger komplizierter organischer Stoffe bei und gelangt alsdann direkt oder auf dem Umwege durch die Herbivoren in den Körper der anderen Tiere. Diesen endlich verläßt es wieder in der Form von Harnsäure, von Harnstoff oder von derartigen Produkten der sogenannten „regressiven Metamorphose“. So gelangt es zurück in den Erdboden. Hier werden die oben genannten aus der Eiweißzersetzung resultierenden chemischen Substanzen unter Abspaltung von Ammoniak zersetzt, das dann weiterer Oxydation unterworfen wird. Der Stickstoff kann also jetzt von neuem in den Lebensprozeß eintreten. Nun ist aber die so in gebundener Form vorhandene Menge dieses Elements dauernd Veränderungen unterworfen. Vermehrt wird sie z. B. dadurch, daß das bei den elektrischen Entladungen während der Gewitter gebildete salpetrigsaure Ammoniak mit dem Regenwasser in den Boden gelangt, und vermindert andererseits vor allem bei jeder Verbrennung, durch welche ja gebundener Stickstoff frei wird. Dieser ist aber für das Leben unentbehrlich; denn ohne ihn können die übrigen Nahrungsstoffe von den Pflanzen nicht verwandt werden. Bunge (1) bezeichnet daher die durch Menschenhand eingeleiteten und Jahrtausende hindurch fortgesetzten Verbrennungen ganzer großer Wälder als einen „Raub“ an dem Vorrat dieses für jeden Lebensprozeß so wichtigen Stoffes. Er verwirft aus demselben Grunde auch die Leichenverbrennung und führt dann an derselben Stelle seines Lehrbuches weiter aus: „Gebundener Stickstoff wird ferner zerstört beim Verpuffen von Schießpulver oder anderen Sprengstoffen, welche sämtlich Derivate der Salpetersäure sind. In diesem Sinne kann man behaupten, daß jeder Schuß eines Feuergewehres tötet, ja daß er gleichviel Leben vernichtet, mag die Kugel ein lebendes Wesen treffen oder nicht. Denn durch den Tod des Individuums wird kein Leben zerstört; aus dem Zerfall des Körpers blüht ebensoviel neues Leben wieder empor. Wird aber gebundener Stickstoff zerstört, so ist

definitiv das Kapital vermindert, von dessen Größe die Summe des Lebens abhängt.“

Das in Verbindung mit anderen Elementen in der Natur vorhandene Nitrogenium allein, so glaubte man lange Zeit, nehme teil an der Ernährung und an dem Stoffwechsel der Pflanzen, während die große, frei in der Atmosphäre vorhandene Menge desselben hierbei nicht in Betracht käme. Thaer (2) zuerst sprach 1809 die Vermutung aus, daß die schon von Plinius (3) erwähnte, längst bekannte Thatsache, daß die Kultur von Leguminosen die Kraft eines Bodens für die folgenden Ernten in ganz hervorragendem Maße zu erhöhen vermöge, durch Nährstoffe bedingt werde, die dieselben der Luft entnehmen und dann mit den Wurzeln und Stoppeln im Boden zurücklassen. Freilich war dies nur eine Annahme, die er nicht zu begründen vermochte, war er doch nicht einmal imstande zu sagen, von welcher Beschaffenheit die erwähnten Substanzen seien. John (4) zeigte sodann, daß durch diese im Acker zurückbleibenden Pflanzenreste nicht nur eine Anreicherung desselben an humusbildenden Substanzen, sondern auch eine bedeutende Vermehrung seiner stickstoffhaltigen Bestandteile herbeigeführt werde. Einen Nachweis, wodurch und wie diese zustande kommt, führte auch er nicht. Es wurde vielmehr um die Mitte des vorigen Jahrhunderts eine ganze Reihe von Hypothesen aufgestellt, die das Zustandekommen der Stickstoffzunahme im Boden durch die Schmetterlingsblütler erklären sollten. Boussingault (5) und nach ihm Lawes, Gilbert und Pugh (6) behaupteten, daß Pflanzen den in der Luft frei sich findenden Anteil dieses Gases sicher nicht assimilieren können. Ville (7) dagegen hielt an dem möglichen Bestehen dieser Fähigkeit fest. Trotzdem aber blieb die Anschauung von der alleinigen Wirksamkeit des gebundenen Nitrogeniums die allgemein anerkannte. Mit derselben suchte man die widersprechenden, bei den Hülsenfrüchtlern gemachten Beobachtungen in Einklang zu bringen: Man schrieb diesen Pflanzen die Fähigkeit zu, infolge ihres größeren Blattreichtums und ihrer länger dauernden Vegetationszeit die in der Luft vorhandenen Mengen von Stickstoffverbindungen besser aufnehmen und verwerten zu können als alle anderen. Weiter stellte man den Satz auf, sie vermöchten mit Hilfe ihres tiefer in den Boden eindringenden und weiter verzweigten Wurzelwerkes auch die den übrigen Gewächsen nicht zugänglichen, etwa in den entfernteren Bodenschichten aufgespeicherten Stickstoffvorräte aufzufinden und zu sammeln. Ja es fehlte auch nicht an Stimmen, die eine Sonderstellung der Papilionaceen überhaupt ableugneten und die in Rede stehende Wirkung derselben darauf zurückführen wollten, daß sie gewisse stickstoffbindende, sonst mit dem Pflanzenleben nicht in Zusammenhang stehende Ereignisse im Boden unterstützten und so sonst etwa eingetretene Verluste verhinderten. — Erst Forschungen der neueren Zeit haben uns belehrt, daß alle diese Voraussetzungen hinfällig sind, daß vielmehr das den wesentlichsten Bestandteil der uns umgebenden Luft bildende freie Stickgas hier mitwirkt, also eine Rolle im Haushalt der Natur zu spielen bestimmt ist, ja sie scheinen

darauf hinzudeuten, daß seine Mitwirkung doch noch eine größere ist, als man zuerst und bislang allgemein angenommen hatte.

Ein praktischer Landwirt, der in weitesten Kreisen bekannt gewordene Schultz-Lupitz, hat gewissermaßen hier bahnbrechend gewirkt. Im Jahre 1881 (8) und sodann in zusammenfassender Weise in einer Schrift „Die Kalidüngung auf leichtem Boden“ (9) teilte er seine mit den Leguminosen gemachten Erfahrungen und Beobachtungen mit. Er wies darauf hin, daß, wenn er auf Sandboden Papilionaceen anpflanzte und mit Kali und Phosphorsäure düngte, dadurch eine so große Anreicherung von Stickstoff in dem Boden erzielt wurde, daß nachher eine Düngung mit natürlichen oder künstlichen dieses Element enthaltenden Mitteln weder für die Schmetterlingsblütler selbst, noch für etwa nach ihnen gebaute Halmfrüchte u. s. w. notwendig war. Er teilte daher die landwirtschaftlichen Kulturpflanzen in „Stickstoffsammler“ und „Stickstofffresser“ und rechnete zu den ersteren Lupinen, Wicken, Erbsen, Klee, überhaupt alle Leguminosen, während der zweiten Kategorie Halmfrüchte, Kartoffeln, Rüben u. s. w. u. s. w. zugehörten. Die damals giltigen, oben des genaueren wiedergegebenen Ansichten über die Stellung der Hülsenfrüchtler konnten diese Erscheinung nicht ausreichend erklären. Doch die wissenschaftliche Forschung, von neuem durch die Erfahrungen der Praxis angeregt, arbeitete unermüdlich und es gelang ihr, diese Frage, zunächst wenigstens, in ihren Grundzügen, zu lösen. Hellriegel und Willfarth (10) haben durch mustergültige Untersuchungen Aufschluß über die Ursache der Stickstoffvermehrung bei der Anpflanzung von Papilionaceen auf leichtem Boden gebracht, nachdem schon Hellriegel (11) auf der Naturforscherversammlung 1886 die damals ungeheueres Aufsehen erregenden Ergebnisse ihrer Versuche und Beobachtungen der Öffentlichkeit übergeben hatte. Sie haben gezeigt, daß denselben außer dem Bodenstickstoff noch eine zweite Quelle zur Verfügung stände, aus welcher sie ihren Bedarf an diesem Element in ausgiebigster Weise zu decken und, soweit ihnen die erste nicht genügt, zu ergänzen vermögen, nämlich der frei in der Atmosphäre vorhandene Anteil dieses Gases. Dieses Ergebnis ihrer Untersuchungen ist einige Jahre später von Schlössing und Laurent (12) voll und ganz bestätigt worden. Diese konnten ebenso auf direktem Wege, d. h. indem sie ihren Versuchsgewächsen, Erbsen, während ihrer Entwicklung das genannte Gas in reinem Zustande zuführten, den gleichen Gewinn feststellen, wie bei der indirekten Methode, die schon Hellriegel und Willfarth angewandt hatten. Mit der eben genannten den Schmetterlingsblütlern eigentümlichen Fähigkeit stehen nun besondere, außer bei diesen Pflanzen nur noch bei einigen wenigen, wie z. B. *Melampyrum pratense* (13), *Rhinanthus major* (13), Akazie, Erle (14) und *Elaeagnus* (15), in gleicher Weise beobachtete, an dem Rhizom derselben sich bildende Knöllchen in ursächlichem Zusammenhang. Hellriegel und Willfarth beobachteten nämlich, daß ein sichtliches Wach-

tum der betreffenden Gewächse in stickstofflosem Boden immer erst nach Entwicklung dieser Anschwellungen stattfand.

Eine Beschreibung derselben giebt schon Malpighi (16), der Gallenbildungen in denselben erkennen will. Anfang des vorigen Jahrhunderts beschreibt dann Karl v. Wulffen (17), der schon 1817 den Anbau der weißen Lupine zur Verbesserung des leichten Sandbodens seines Gutes Pietzpuhl ausnutzte und für gleichartige Fälle empfahl, den wir also gewissermaßen als den Vorläufer von Schultz-Lupitz ansehen können, die von ihm wahrgenommenen „kleinen Knoten“ an den Leguminosenwurzeln, die er sonst bei keiner anderen Pflanze finden konnte. Persoon und Fries¹⁾ sehen dieselben als eigentümliche Pilze aus der Gattung *Sclerotium* an. Candolle (18) und ebenso Tulasne erachteten sie für krankhafte Auswüchse der Wurzeln, während Clos (19) sie für Lenticellen derselben hält. Genauer untersucht wurden dieselben sodann von Treviranus (20), welcher sie als „unvollkommene Knospen mit knolliger Grundlage“, jedenfalls als normale pflanzliche Gebilde betrachtet. Kolaček (21) nennt sie „Schwammwurzeln“, weil sie beim Befuchten schnell sich vollsaugen und glaubt, daß sie zum Aufsaugen der Nahrung dienen. Gasparini (22) hingegen läßt sie nur als „fehlgeschlagene und angeschwollene Nebenwurzeln“ gelten. Lachmann (23) machte darauf aufmerksam, daß diese Knöllchen regelmäßig bei allen Schmetterlingsblütlern vorkämen und brachte ihr Erscheinen in Zusammenhang mit der bodenanreichernden Fähigkeit dieser Pflanzen. Auf die Möglichkeit des Bestehens dieser Wechselwirkung weisen weiter Rautenberg und Kühn (24) hin, die bei ihren Vegetationsversuchen im Jahre 1863 in stickstofffreien Lösungen Knöllchenbildung beobachteten. Die erste eingehendere, den feineren Bau beschreibende Arbeit ist wohl die von Woronin (25), der die Wurzelanschwellungen bei der Lupine in der Hauptmasse aus einem Parenchymgewebe aufgebaut fand und der Meinung ist, daß dieselben durch fremde Organismen verursacht würden, als die er von ihm zum ersten Male in den Knöllchen beschriebene vibrioähnliche Körperchen ansieht. Nach ihm ist in den nächsten 20 Jahren eine große Anzahl von Veröffentlichungen über diese eigentümlichen Verdickungen an Leguminosenwurzeln und über deren Inhalt erschienen, die die schon vorhandenen Deutungen von ihrer Funktion und von der Beschaffenheit und der Natur der in ihnen aufgespeicherten Substanzen und Stoffe noch um einige vermehrten. Nobbe (26) sagt von ihnen, sie seien „Organe für die Aufspeicherung — nicht für die Aufnahme, wie man behauptet hat — stickstoffhaltiger Nahrungsstoffe, welche in der Fruchtbildungsperiode ausgeschöpft werden“. Anderer Ansicht ist Eriksson (27). Er glaubt, die Anschwellungen an den Wurzeln der Schmetterlingsblütler seien durch einen Pilz hervorgerufene pathologische Gebilde. Dieser sei in denselben einmal als die bakterienähnlichen Körperchen Woronin's, sodann aber noch in einer zweiten Form,

1) Citirt nach Prazmowski, Landwirtschaftliche Versuchsstationen. Bd. XXXVII. p. 169.

als Fäden, als Hyphen, enthalten. De Vries (28) hingegen bezeichnete die Knöllchen als „adventive Wurzelzweige mit beschränktem Längenwachstum“, in welche die seiner Meinung nach indifferenten „Bakterien“ (d. h. die von Woronin gefundenen vibrioähnlichen Gebilde) erst nachträglich eindringen. Die Wurzelknöllchen sollten sich unabhängig von diesen zufällig in ihnen sich ansiedelnden Pilzen an der Stickstoffzunahme beteiligen, indem sie die aus dem Boden herrührenden Salze dieses Elementes zum Teil wenigstens in Eiweißstoffe umwandeln, sie sollten also in der Hauptsache Eiweißbildner sein, in zweiter Linie dann aber auch noch als Speicher dieses so wichtigen Produktes dienen. De Vries also glaubt in denselben normale Bildungen vor sich zu haben. Die meisten anderen Autoren, die sich gleichzeitig oder in den folgenden Jahren mit dieser Frage beschäftigten, neigen mehr der von Eriksson geäußerten Meinung zu, daß wir in den Knollen durch einen Pilz verursachte krankhafte oder wenigstens für die Pflanze gleichgiltige Veränderungen zu sehen haben. Cornu (29), der sie als „metamorphisierte Seitenwurzeln“ bezeichnet, sucht in ihnen sogar die Ursache für die meisten Krankheiten der Leguminosen. Auch Prillieux (30) hält sie für pathologische Anschwellungen, verursacht durch „Bakterien“, deren Entstehung aus Plasmodienfäden (Hyphen Eriksson's) er mit Sicherheit beobachtet haben will. Auf demselben Standpunkt steht ferner Kny (31), er will in den noch in Teilung begriffenen Parenchymzellen Plasmastränge erkannt haben, die mit großer Wahrscheinlichkeit als die Erzeuger der abnormen Gewebswucherungen der Leguminosenwurzeln anzusehen sind und an denen die Woronin'schen bakterienähnlichen Körperchen als Sporen sich entwickeln sollen. Infolge Kny's erster kurzer Mitteilungen in einer Sitzung des botanischen Vereins der Provinz Brandenburg (32) über diesen Gegenstand veröffentlichte Frank (33) eine Arbeit, in der er an der Pilznatur der Hyphen (nicht Plasmodienstränge) und der Sproßzellchen, wie er die „sogenannten Bakterien“ bezeichnet, festhält und nicht daran zweifelt, daß durch sie die Knötchen an den Wurzeln hervorgerufen werden, zumal er durch Versuche feststellen kann, daß in ausgeglühtem Boden die Knöllchen sich nicht bilden. Er untersuchte ferner bisher daraufhin noch nicht geprüfte Papiilionaceen, und es gelang ihm, bei allen diesen die eigentümlichen Wurzelgebilde festzustellen und in denselben „Hyphen“ und „Sproßzellchen“ nachzuweisen; nur allein bei der Lupine fehlten, wie schon Woronin gesehen, die ersteren. Schindler (34) stellte, allerdings ohne einen Beweis dafür zu geben, eine Hypothese auf, der wir bei ihm zum ersten Male begegnen, er spricht nämlich von einer Art Symbiose, die durch die Anschwellungen zwischen dem Pilz und der Mutterpflanze vermittelt werde und mit welcher die Eiweißbildung in einem gewissen näheren Zusammenhang stehe. Brunchhorst (35) verwarf diese ebengenannte neue Ansicht, weicht aber auch wesentlich in seiner Meinung von der bisherigen ab. Nach ihm stehen die Hyphen oder Plasmastränge einerseits und die bakterienähnlichen Körperchen oder

Sproßzellchen andererseits in gar keinem Zusammenhange miteinander. Während die ersteren pilzlicher Natur sind, stellen die letzteren vielmehr Gebilde dar, die von der Pflanze selbst aus ihrem Zellplasma zu irgend einem Zwecke erzeugt und nach Erfüllung desselben wieder resorbiert werden, indem die wertvolle Eiweißsubstanz zur Fruchtbildung verwertet wird. Er schlägt auf Grund dieser neuen Auffassung auch einen neuen Namen für die Woronin'schen Körperchen vor, nämlich „Bacteroiden“. Diese sollen für die Ernährung der Pflanze von Wichtigkeit sein, sie sollen etwa nach Art eines organisierten Fermentes wirken. Zu ihrer Aufnahme allein sollen die Wurzelknöllchen gebildet werden. Also stellen diese nach ihm normale Bildungen dar. Im Widerspruch mit seiner früheren Veröffentlichung¹⁾ und mit den gerade damals bekannt gemachten klassischen Untersuchungen Hellriegel's²⁾ schließt sich Frank (36) den soeben wiedergegebenen Behauptungen seines Schülers Brunchhorst an. Er betrachtet die Sproßzellchen nicht mehr als Pilze und die Knöllchen nicht mehr als von denselben erzeugt. Sie sind jetzt nach ihm pflanzliche Aufnahmeorgane für stickstoffhaltiges Material aus dem Boden und dienen zugleich als Vorratskammern des letzteren. In einer weiteren Arbeit (37) erklärt er auch die „Hyphen“ nicht mehr für „etwas Pilzliches“, sondern für Bildungen der Leguminosenzelle selbst. Der Ansicht Brunchhorst's schließt sich auch Schindler (38) im wesentlichen an. Tschirch (39) führt die von Brunchhorst und Frank aufgestellten Sätze über die Natur der Hyphen und Bacteroiden weiter aus, dieselben sollen wahrscheinlich direkt aus dem Plasma der Pflanzenzellen entstehen und die ersteren gewissermaßen ein Vorläuferstadium der letzteren darstellen. Die von Brunchhorst aufgestellte Behauptung von der fermentartigen Wirkung der Bacteroiden weist er zurück. Die Knöllchen selbst sind seiner Ansicht nach vorübergehende Reservespeicher für Eiweiß, vielleicht auch für Stärke, aber keine Aufnahmeorgane für diese Stoffe. Bemerkenswert ist auch die Mitteilung Tschirch's, daß er den Versuch gemacht habe, die Bacteroiden auf künstlichen Nährböden, festen und flüssigen und bei verschiedenen Temperaturen zu züchten, allerdings vollständig ohne Erfolg. — Aus den bisher genannten Arbeiten, zu denen auch noch die von Strecker (40), Benecke (41), Vuillemin (42), ferner die von van Tieghem und Douliot (43), die von Lundstroem (44) und einigen Anderen zu rechnen sind, und aus der Mannigfaltigkeit der in denselben wiedergegebenen Deutungen und Erklärungen, geht zur Genüge hervor, daß bis zu den epochemachenden, schon des öfteren erwähnten Untersuchungen von Hellriegel und Willfarth eine Klarheit und eine allseitig anerkannte Lösung der Fragen über die stickstoffsammelnde Thätigkeit der Leguminosen auf armen Böden noch nicht erlangt war. Diese beiden Forscher haben, gestützt auf zahlreiche einwandfreie Versuche, gezeigt, daß die Papilionaceen nur mit Hilfe bestimmter in den Wurzelknöllchen

1) Cfr. p. 787.

2) Cfr. p. 785.

sich vorfindender Mikroorganismen des Bodens, denn als solche haben sich bei genauerer Forschung die von den früheren Autoren gesehenen und von ihnen als „Bakterien“ oder „Bakteroiden“ oder „Sproßzellen“ bezeichneten „Körperchen“ herausgestellt, imstande sind, den freien atmosphärischen Stickstoff zu assimilieren. Niemals nämlich wurde in sterilisiertem und während der Vegetationszeit steril erhaltenem Boden das Auftreten jener Wurzelanschwellungen beobachtet, gleichgiltig, ob derselbe stickstofflos war und die Pflanzen darin langsam verhungerten oder ob derselbe mehr oder weniger Nitrate enthielt und die Gewächse eine dementsprechende Entwicklung erreichten.

Die Hellriegel'schen Sätze fanden durchaus nicht allgemeine Anerkennung und Zustimmung, besonders von seiten der Botaniker wurden seine Versuche mit Mißtrauen aufgenommen. Die Behauptung, daß die Schmetterlingsblütler freien Luftstickstoff zu binden vermöchten und daß die Knöllchen derselben damit in Zusammenhang ständen, war es in erster Linie, die von den Gegnern, wie z. B. von Delpino (45), von Beijerinck (13) u. A., angegriffen und bestritten wurde. War doch die Boussingault'sche Lehre von dem Unvermögen der Pflanzen eine derartige Leistung zu vollbringen in der Wissenschaft überall angenommen und scheinbar fest gegründet. Die weiterhin von Hellriegel aufgestellte Ansicht, daß gewisse bestimmte Bodenbakterien die Urheber der Knöllchen an den Wurzeln seien, wurde hingegen von den Meisten anerkannt. Nur Frank (46) hielt auch diese nicht für zu Recht bestehend, wenigstens nicht in seinen ersten, darauf folgenden Veröffentlichungen, in denen er immer wieder die Richtigkeit der Untersuchungsergebnisse Hellriegel's und die ihrer Deutung bestritt und auch durch Versuche dieselben als irrtümlich nachzuweisen strebte. Wenn er auch, wie aus seiner Arbeit (47) „über die Pilzsymbiose der Leguminosen“ hervorgeht, seine früheren Anschauungen dann bald vollständig änderte, so hat er doch nur darin der Hellriegel'schen Auffassung sich angeschlossen, daß die Wurzelknöllchen durch Bodenbakterien hervorgerufen würden. Im übrigen aber sind seine Ansichten, zu denen er durch offenbar falsche Schlußfolgerungen aus seinen Versuchen geführt wurde, dauernd von denen Hellriegel's und den allgemein anerkannten abgewichen: So hat er z. B. behauptet, daß die spezifischen Mikroorganismen sich auch in den oberirdischen Pflanzenteilen verbreiten und in den Parenchymzellen der Stengel, Blattstiele u. s. w. gefunden werden können (47), eine Meinung, die speziell Zinsser (48) widerlegte, der zeigte, daß in diesen Partien lebensfähige Mikroben nicht enthalten sind und daß nach erfolgter Infektion der Wurzel den Knöllchenbildung hervorrufenden Lebewesen eine Wanderfähigkeit über größere Strecken hin abgesprochen werden muß. So will Frank weiter die Befähigung, elementaren Stickstoff zu assimilieren, für alle Pflanzen nachgewiesen haben (49). Die Knöllchenbakterien sollen nach ihm von der Leguminose speziell zum Verzehren gezüchtet werden (50), sie sollen nur ein kräftiges Reiz- und Förderungsmittel für die Ernährung und Entwicklung der Pflanze aber kein Specificum für die Bindung freien Stickgases bilden, da

ja hinsichtlich dieser Befähigung zwischen Papilionaceen und Nicht-papilionaceen kein prinzipieller Unterschied bestehe (51).

Daß außer den genannten mehr oder weniger weitgehenden Bekämpfern der neuen Anschauung über die Schmetterlingsblütler auch eifrige Anhänger auftraten, die durch sorgfältige Versuche die Angaben Hellriegel's und Willfarth's bestätigten, die Richtigkeit derselben außer Zweifel setzten und eifrig an dem Ausbau und an der Erforschung dieser Frage weiter arbeiteten, das bedarf keiner besonderen Betonung. Die Anzahl der hierher gehörigen Abhandlungen und Aufsätze, Berichte u. s. w. ist nicht gering, so daß es nicht möglich ist, anf alle einzugehen, und auch wohl nicht erforderlich, da naturgemäß eine ganze Reihe von ihnen im wesentlichen nur die Hellriegel'schen Sätze bekräftigende Nachprüfungen bringt. Genannt seien hier die schon oben (p. 772) erwähnte Arbeit von Schloessing und Laurent (12), ferner die umfassende, außerordentlich sorgfältige und eingehende von Prazmowski (52), auf die wir später noch ausführlicher zurückkommen werden. Weiter gehören hierher Beijerinck's (53) Untersuchungen, die uns ebenso wie die ebenfalls hier zu nennenden von Nobbe und Hiltner (54) noch des näheren beschäftigen werden. Erwähnt mögen ferner sein die Veröffentlichungen von Lawes und Gilbert (55), von Atwater und Wood's (56), von Ward (57), von Bréal (58), von Kossowitsch (59), von Wagner (60), ebenso die von Hellriegel (61) und die von Willfarth (62), in welchen die von Frank erhobenen Einsprüche zurückgewiesen werden, u. a. m.

Waren so die bahnbrechenden Untersuchungen Hellriegel's und Willfarth's fast ganz allgemein in der wissenschaftlichen Welt anerkannt, so ergab sich daraus die neue Aufgabe, das Wesen der Stickstoffanreicherung durch die in den Knöllchen sich findenden, in die Pflanze eingedrungenen Bodenbakterien näher zu studieren. Zu diesem Behufe war es vor allen Dingen notwendig, diese letzteren selbst rein darzustellen und ihre physiologischen und biologischen Eigenschaften zu prüfen: Die Reinzüchtung der genannten Mikroorganismen gelang zuerst Beijerinck (13). Nach ihm haben sich eingehender mit derselben beschäftigt und auch in der Litteratur darüber Näheres berichtet: Prazmowski (52), Frank (47) und Gonnermann (63). Beijerinck bediente sich zur Gewinnung der Knöllchenbakterien des Koch'schen Plattenverfahrens. Er fand bei seinen Versuchen, daß der beste Nährboden für den von ihm kultivierten und für spezifisch gehaltenen *Bacillus radicolica* ein Dekokt von Erbsen- oder Fabastengeln oder auch -Blättern mit 7 Proz. Gelatine, 0,25 Proz. Asparagin und eventuell noch 1,5—2 Proz. Rohrzucker sei. An Stelle der Gelatine verwandte er auch gleich zweckmäßig Agar-Agar. Die Reaktion des Nährmediums ist am besten schwachsauer, schon 2—3 ccm Normalsäure auf 100 ccm schließen die Entwicklung aus, ebenso sollen alkalisches und neutrales Verhalten desselben schädigend für das Wachstum des Mikroorganismus sein. Fleischwasserpeptongelatine soll besonders für die ersten Kulturen zu konzentriert sein. Beijerinck sah nur bisweilen darauf Ent-

wickelung und dann ging dieselbe nur äußerst langsam von statten. Das in den Wurzelanschwellungen wirksame Bakterium hat Stäbchenform. Es durchläuft 3 miteinander in Zusammenhang stehende Phasen seiner Entwicklung. Die „Schwärmer“, nach des Forschers Meinung die kleinsten bekannten Lebewesen — sie sind $0,9 \mu$ lang und $0,18 \mu$ breit — dringen vom Boden aus in die Wurzelhärchen der Leguminose ein. Ihre Form sei wegen ihrer Kleinheit schwierig festzustellen, scheine aber „bakteroidenähnlich oder kugelig-dreieckig zu sein; der einzige Geißelfaden sitzt am Hinterende“. Einige Zeilen weiter giebt der Forscher jedoch zu, daß er Schwärmfäden niemals direkt beobachtet habe. Die Schwärmer sollen sodann als sogenannter „Infektionsschlauch“, der sich als ein zahlreiche derartige Individuen enthaltender Bakterienschleim darstellt, in der Wurzel selbst von Zelle zu Zelle vordringen. Sie gehen hier in die „Stäbchen“ über, während die Pflanze auf die Infektion dadurch reagiert, daß viele der betroffenen Zellen sich vergrößern und so zur Knöllchenbildung beitragen. Auch die Stäbchen zeigen lebhaftige Bewegung, sind ca. 4μ lang, 1μ dick und haben eine unsymmetrische, spindelförmige Gestalt. Sie sollen „einseitig und zwar etwas neben der Mitte gebuckelt sein, in der Weise, daß wenn sich diese Anschwellung weiter erhebt — was faktisch geschieht — die eigentümliche, zweiarmige Gestalt der Bakteroiden erreicht wird“. Mit diesem Namen¹⁾ bezeichnete der Autor und nach ihm alle weiteren Forscher die dritte, die Endform des *Bacillus radicolus*. Sie sind gewissermaßen metamorphe Bakterien, die keiner weiteren Entwicklung mehr fähig sind und nun als geformte Eiweißkörper fungieren. Ihr Aussehen ist nicht bei allen Papilionaceenarten das gleiche, bei *Vicia*, *Pisum* und *Lathyrus* sind sie zweiarmig gestaltet, während sie bei *Phaseolus*, *Ornithopus*, *Lotus* u. s. w. eine von den Bacillen kaum abweichende Form zeigen und bei *Trifolium* ein kugeliges oder birnförmiges Aussehen haben. Beijerinck betont in seiner Arbeit (p. 761), daß er auch auf künstlichen Nährsubstraten „zweiarmige Bakteroiden so schön und wohl ausgebildet, wie in den vollkommensten Leguminosenknöllchen, sehr oft angetroffen habe“ und sagt an anderer Stelle (p. 785), daß er in zahlreichen alten *Radicicola*-Kulturen „wahre Bakteroiden“ aufgefunden habe. Bemerkenswert ist weiter die Mitteilung, daß er unter dem Mikroskop die Umwandlung derselben zu schnell beweglichen Bakterien beobachtet haben will. Das Temperaturoptimum für den *Bac. radicolus* liegt bei Zimmerwärme, zwischen 0° und 10° ist das Wachstum noch ziemlich energisch, bei über 47° hört es auf und zwischen 60° — 70° stirbt der Mikroorganismus sicher ab. Gefrieren und Austrocknen sollen nicht tödlich wirken. Sporenbildung kommt nicht vor. Das von dem Forscher isolierte Mikrobium tritt in den Papilionaceenknöllchen in 2 Varietäten auf: Die erste bildet „größere Kolonien, mehr hyalines Wachstum, auf Fleischwasserpepton gelatine schwierig oder überhaupt ausbleibend, durch Rohrzucker und Dextrose gefördert.

1) Siehe p. 788.

Schwärmer sehr klein. Bakteroiden zweiarmig oder kugelig oder birnförmig. Meristem immer in den Knöllchen gegenwärtig. Primäre Rinde der Knöllchen geschlossen. Schleimfäden deutlich.“ Hierher gehören *Bac. radicola* var. *Fabae* aus *Vicia faba* und *Vicia narbonensis*, *Bac. radic.* var. *Viciae hirutae*, var. *Trifolior.*, var. *Pisi*, var. *Lathyri* und einige andere seltener. Die Kolonien der zweiten Gruppe sind mehr trüblich weiß, opak; Wachstum auf Fleischwasserpeptongelatine etwas ausgiebiger, wie bei der ersten Gruppe; Schwärmer mehr stäbchenförmig, gewöhnlich länger. Bakteroiden bakterienähnlich, seltener verzweigt. Schleimfäden fehlen oder sind nur wenig entwickelt. In den Knöllchen meist kein Meristem (Ausnahme *Robinia*)“. Der *Phaseolus*-, der *Lupinus*- und *Robinia*-Typus werden von Beijerinck hierher gerechnet.

Prazmowski (52) verwandte zur Züchtung der Knöllchenbakterien einmal den von Beijerinck angegebenen Nährboden, ferner aber auch Erbsenblätterdekot, mit Zusatz von 0,5 Proz. Asparagin und 1 Proz. Traubenzucker, sodann aber auch eine Lösung des letzteren (1—2 g pro Mille) allein mit und ohne Asparagin und mit den nötigen Mineralsalzen: saures phosphorsaures Kali, schwefels. Magnesia, schwefels. Kalium je 1,0 g und Chloralkali 0,01 g auf 1000,0. Untersucht wurden Erbse, Lupine, Wicke und Bohne. Auf der Beijerinck'schen Nährgelatine beobachtete er am 2., öfter auch erst am 5. oder 6. Tage kleine weißliche punktförmige Kolonien. Dieselben wachsen langsam innerhalb 10—14 Tagen und nehmen die Gestalt von sphärischen oder auch länglich ovalen, milchweißen, perlmutterartigglänzenden, etwas erhabenen, an erstarrtes Stearin erinnernden Tropfen an. Später bekommen sie ein mehr mattes, wässriges Aussehen. In Nährflüssigkeiten tritt am 3. oder 4. Tage eine leichte, in den nächsten Tagen weiter zunehmende, milchige Trübung auf. Es bilden sich äußerst zarte, schwach irisierende Häutchen, ohne daß indessen eine die Oberfläche überziehende Haut entsteht. Bei weiterem Wachstum werden die oberen Schichten allmählich klar, während sich am Boden ein reichlicher, flockiger Niederschlag ansammelt. — Sowohl auf der Gelatine, als auch in den flüssigen Nährmedien erscheint das „*Bacterium*“ *radicola* (so bezeichnet Prazmowski den Mikroorganismus) als ein äußerst kleines, lebhaft bewegliches Stäbchen, das nach seinen Beobachtungen sich in der Ruhelage gewöhnlich senkrecht oder schief zur Ebene des Gesichtsfeldes stellt und dann kleinen, glänzenden „Sporenkügelchen“ ähnlich erscheinen soll. In künstlichen, auf dem Höhepunkt ihrer Entwicklung stehenden Kulturen des *Bac. radic.* finden sich neben äußerst kleinen auch größere, 2—3 μ lange und 0,2 μ breite, leicht bewegliche Stäbchen, die öfters zu zweien, seltener zu dreien oder vierten mit einander zu kurzen Ketten verbunden sind. In älteren Kulturen werden die Bacillen zum Teil unbeweglich, „wieder kleiner“ und vereinigen sich zu unregelmäßigen, dichten Haufen, in denen die Mikroorganismen so eng aneinander gelagert sind, daß die ganze Kolonie wie eine unförmige, feinkörnige Masse aussieht. Ein Teil der Stäbchen bewahrt aber auch

monatelang seine Schwärmfähigkeit. Auch Prazmowski hat Sporen bei dem Leguminosenbacterium nicht beobachtet. Bei einer Temperatur von 75° stirbt es gewöhnlich schon nach 3—5 Minuten ab. Die Bakteroiden gehören seiner Ansicht nach nicht in den normalen Entwicklungskreis des Mikroorganismus, sie entstehen vielmehr nur unter dem Einfluß des Zellplasmas der lebenden Pflanze, können also außerhalb ihrer natürlichen Bedingungen nur in Ausnahmefällen gebildet werden. Er selbst hat sie sowohl auf Gelatine, wie auch in flüssigen Substraten während einer Beobachtungszeit von 10 Monaten niemals gefunden. Allerdings kann die Neigung der Knöllchenbakterien sich zu Gruppen zu vereinigen, sich unter einem Winkel aneinanderzulegen, leicht auch in künstlichen Nährmedien das Bild verzweigter Bakteroiden vorzutauschen. Die Entwicklung dieser selbst will der Autor während 6 Stunden unter dem Mikroskop beobachtet und gefunden haben, daß die Stäbchen unter dem Einfluß der Pflanze eine Reihe von succesiven Veränderungen erleiden, welche mit einem Wechsel der Gestalt und Abschwächung der Vegetationskraft beginnen und mit einer vollständigen Degeneration und Umwandlung der Bakterienkörper in besondere Eiweißsubstanzen abschließen. Von dem Versuch einer Färbung findet sich in seiner Arbeit ebensowenig eine Mitteilung wie in der Beijerinck'schen.

Etwa gleichzeitig mit Prazmowski berichtete Frank (47) über ihm gelungene Reinzüchtung der Knöllchenbakterien. Als Ausgangsmaterial diente ihm Wurzelanschwellungen der Erbse und der Lupine. Das denselben nach sorgfältiger äußerster Reinigung und nach Durchschneiden mit einem sterilisierten Messer mit der ausgeglühten Platinnadel entnommene Gewebspartikelchen wurde im hängenden Gelatinetropfen beobachtet. Frank fand hier zuerst eine gewisse Menge von Bakteroiden und konnte deutlich das Entstehen der sogenannten Schwärmer aus denselben verfolgen. Er giebt an, daß darin je nach ihrer Größe 2, 3, 4 und mehr kleinste Stäbchen deutlich zu erkennen sind, die zunächst in Ruhe sich befinden. Langsam löst sich das Bakteroid auf, die Einschlüsse treten mehr und mehr hervor, fangen an beweglich zu werden und werden schließlich frei. Das Bacterium und das Bakteroid sind nach Frank's Ansicht zwei nicht derselben Art angehörige Gebilde. Das erstere ist ein fremder Organismus, das letztere ein Abkömmling, ein Produkt des Protoplasmas der Pflanzenzelle selbst. Als weitere Unterschiede zwischen beiden führt er noch die Größe an, die bei letzteren 3—5 μ , bei den Stäbchen 0,9—1,3 μ beträgt, ferner die Gestalt. Diese ist bei den einen unregelmäßig länglich, krumm oder gebuckelt und vorwiegend Y-förmig verzweigt, während die anderen unverzweigte, meist gerade Bacillen sind. Auch das Lichtbrechungsvermögen ist verschieden, bei den Bakteroiden stärker als bei den Bakterien. Geißeln hat der Verfasser an diesen nicht wahrnehmen können. Die Art ihrer Bewegung ist nicht immer die gleiche, manche stehen zeitweise still, fahren nur mitunter mehrmals in derselben Richtung nach vor- und rückwärts, während andere wieder in weiten Bahnen durch den Tropfen schwimmen. Daneben sollen sich auch

solche vorfinden, an denen eine Beweglichkeit überhaupt nicht festzustellen ist. Mit erhitzten Anilinfarben gelingt die Färbung der Mikroorganismen leicht und läßt sich mit Hilfe derselben oft eine beginnende Zweiteilung der Bakterien, die sich durch eine in der Mitte mehr oder weniger tiefe Einschnürung kennzeichnet, beobachten. In älteren Kulturen soll sich eine gallertartige Substanz bilden und darin die Stäbchen bewegungslos eingebettet werden. Frank will gerade in dieser Zoogloeamasse eine lebhaftere Vermehrung der eingeschlossenen Bacillen beobachtet haben. Bei der Aussaat auf der Gelatineplatte ist das Wachstum sehr langsam. Die Kolonien zeigen sich 3—6 Tage nach der Infizierung als kleine Pünktchen, in den folgenden Tagen wachsen sie ganz allmählich. Viele haben selbst nach Wochen und Monaten kaum 1 mm Durchmesser, während andere auch größer werden, rosettenartig sich ausbreiten und selbst bis fast 1 cm Durchmesser erlangen. Der Umriß der kleinen Kolonien ist rund oder auch elliptisch, sie überragen etwas die Oberfläche, haben gallertige Beschaffenheit und meist blaßgelbliche Farbe; doch kommen mit zunehmendem Alter alle Nuancen von grau bis dottergelb vor. Die Gelatine wird etwas verflüssigt, oft findet sich ein schmaler Hof um die Kolonien, ja mitunter setzen sie sich zapfenartig in den Nährboden fort. Andere wieder lassen eine merkliche Peptonisierung nicht erkennen. Die Vermehrung des von Frank *Rhizobium leguminosarum* genannten Mikroorganismus geschieht durch Zweiteilung, aus der längere und kürzere Stäbchen hervorgehen sollen.

(Fortsetzung folgt.)

Original-Referate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen Instituten, Laboratorien etc.

Nachdruck verboten.

Studien über Proteolyse durch Hefen¹⁾.

II. Mitteilung.

Von Dr. H. Will.

Zunächst werden einige Nachträge zu den in der I. Mitteilung gegebenen Tabellen gebracht, nachdem zur Zeit der Veröffentlichung der letzteren die Versuche noch nicht mit allen Hefen zu Ende geführt waren.

Im zweiten Kapitel werden Beobachtungen über die Verflüssigung von ungehopfter 10-proz. Würzelatine durch die früher schon verwendeten 27 Arten von Hefe und eine Art von *Mycoderma* in Stichkultur und bei gleichmäßiger Verteilung in der Gelatine bei 20 und 13° C mitgeteilt.

¹⁾ Nach Mitteilungen der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München. (Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. 1901. No. 9—17; vergl. dies. Centralbl. 2. Abt. Bd. IV. 1898. p. 753.)

Beim Kochen der Würze mit Hopfen werden Eiweißkörper ausgefällt; an Stelle des gefällten Eiweißes treten jedoch andere stickstoffhaltige Substanzen aus dem Hopfen, wie Asparagin, Cholin, Trimethylamin und Alkaloide. Die aus dem Hopfen in die Würze übergehenden Stickstoffmengen sind jedoch gegenüber den schon in der ungehopften Würze befindlichen sehr klein. Der Gesamtwert der Eiweißstickstoff ist nach dem Kochen der Würze mit Hopfen derselbe wie der in der ungekochten Würze. Gleichwohl müssen qualitative Veränderungen und zwar nicht nur in Beziehung auf die stickstoffhaltigen Körper in der gehopften Würze sich vollziehen, sonst würden sich die bedeutenden Unterschiede hinsichtlich der Proteolyse gegenüber den Versuchen in gehopfter Würzegeleatine unter den gleichen Verhältnissen nicht wohl erklären lassen.

Außer den genannten Körpern geht der Gerbstoff, die löslichen Kohlehydrate etc. sowie die Säuren vollständig in Lösung. Von den in Wasser schwer und nur teilweise löslichen und beim Kochen sich teilweise verflüchtigenden oder zersetzenden Bestandteilen, den Mineralstoffen, dem Hopfenöl, Bitterstoff und Harzen geht dagegen nur ein gewisser Anteil in die Würze über.

Zu den Versuchen wurde Vorderwürze aus der gleichen Brauerei, aus welcher die gehopften Würzen bezogen worden waren, verwendet. Bei einem Extraktgehalt von 14,5 Proz. Bllg. zeigte dieselbe eine Acidität = 0,231 Vol.-Proz. Milchsäure. Im übrigen wurden die Versuche in gleicher Weise wie früher durchgeführt. In Beziehung auf die äußeren Erscheinungen bei der Entwicklung und bei der Verflüssigung ist nach den früher gemachten Darlegungen nichts Wesentliches mehr zu berichten.

In den meisten Fällen war bei gleichmäßiger Verteilung der Hefen eine mehr oder minder stark ausgeprägte Zone stärksten Wachstums vorhanden.

Der Verlauf der Verflüssigung war meist der reguläre und wurden hierdurch die Kulturen der einzelnen Versuchsreihen untereinander vergleichbar.

Bei den Stichkulturen bewegt sich in der bei 20° C durchgeführten Versuchsreihe die Zeit, nach welcher die Verflüssigung begann, zwischen 41 und 147 Tagen, in der Versuchsreihe bei 13° C, soweit hier überhaupt eine Verflüssigung eintrat, zwischen 89 und 277 Tagen. In beiden Fällen begann also die Verflüssigung viel später als in der gehopften Würzegeleatine. Hier machte sich dieselbe bei 20° C innerhalb 18 und 100 Tagen, bei 13° C zwischen 45 und 240 Tagen bemerkbar.

Es handelt sich also offenbar um Verschiedenheiten, deren Ursache wohl in der verschiedenen Zusammensetzung des Substrates liegt. Es sei in dieser Richtung daran erinnert, daß nach P. Petit¹⁾ Oberhefe mehr als das Doppelte an Amidostickstoff verbraucht als die Unterhefe, dagegen viel weniger Ammoniakstickstoff.

Wenn man vergleicht, welche Hefenarten in der Vorderwürze-

1) Compt. rend. T. CXXIV. p. 93.

gelatine bei 20° C am schnellsten zu verflüssigen beginnen, so findet man hier wie bei der gehopften Würzelatine unter diesen *S. anomalus* Will, die obergärigen Bierhefen Rio, 170, 25 und 28. Von den untergärigen Kulturhefen steht im Gegensatz zu der gehopften Würzelatine Carlsberghefe No. 1 an der Spitze. Das Verhalten von Hefe Saaz stimmt mit dem in der gehopften Würzelatine überein. Stamm 6 und 93 sowie Froberg gehören ebenfalls in Uebereinstimmung mit den Beobachtungen in der gehopften Würzelatine mit zu denjenigen Hefen, bei welchen die Verflüssigung relativ frühzeitig eintritt.

Am Ende der Reihe stehen auch *Mycoderma* Will, *S. membranefaciens* und *S. Marxianus*. Ersteres hatte in der gehopften Würzelatine schon nach 32 Tagen gegenüber 101 Tagen in der Vorderwurzelatine zu verflüssigen begonnen.

Ziemlich übereinstimmend verhielt sich Stamm 7, der gleichmäßig in beiden Gelatinen im Gegensatze zu den übrigen untergärigen Bierhefen sehr spät zu verflüssigen begann.

Die bei 13° C durchgeführte Versuchsreihe zeigt in Beziehung auf die am Anfange der Tabelle verzeichneten Hefenarten nahezu völlige Uebereinstimmung mit der bei 20° C durchgeführten, wenn auch die Rangordnung nicht die gleiche ist; diejenigen Hefen, welche bei 20° C am raschesten mit der Verflüssigung beginnen, thun dies auch bei 13° C. Stamm 2, 6 und 93 gehören dagegen bei der niederen Temperatur zu denjenigen Hefen, bei welchen die Verflüssigung langsamer eintritt.

Auch *Mycoderma* befindet sich naturgemäß bei der niederen Temperatur am Ende der Reihe, wo es sich in Gesellschaft von Stamm 7 und *S. Marxianus* befindet, während *S. membranefaciens*, obgleich er sich sehr stark entwickelt hatte, die Gelatine bei dieser Temperatur überhaupt nicht verflüssigte.

Bei einem Vergleiche der bei 13° C beobachteten Versuchsreihen mit gehopfter und ungehopfter Würzelatine findet man bei letzterer, mit Ausnahme von *Schizos. Pombe*, Oberhefe 170 und *Mycoderma*, die gleichen Hefen am Anfange der Reihe mit der kürzesten Zeitdauer bis zum Beginne der Verflüssigung; dagegen rücken die bei ersterer mit an der Spitze stehenden Hefen Stamm 2 und Logos mehr an das Ende. Die untergärigen Bierhefen Stamm 93 und 6, welche bei der gehopften Würzelatine noch eine mittlere Stellung einnehmen, stehen bei dem ungehopften Substrate am Ende, trotzdem sich die Hefen in den Kulturen stark entwickelt hatten und die Gelatine nur in geringem Grade zerklüftet war. In Beziehung auf Stamm 7, *S. Marxianus* und wilde Hefe No. 2, welche am spätesten zu verflüssigen begannen, besteht zwischen den beiden Versuchsreihen Uebereinstimmung. Die Kulturen von wilder Hefe No. 1 und *S. membranefaciens*, welche die gehopfte Würzelatine verflüssigten, trockneten nach guter Entwicklung ein, ohne die Vorderwurzelatine zu verflüssigen.

Der kürzeste Zeitraum, innerhalb dessen bei 20° C die 10 ccm der Vorderwurzelatine verflüssigt wurden, betrug 33 Tage, der längste 361 Tage. *S. apiculatus* hatte nach 334 Tagen seit Be-

ginn der Verflüssigung erst etwa 3 Vierteile der Gelatine verflüssigt. Bei fortgesetzter Beobachtung während 2 Monaten war ein weiterer Fortschritt in der Verflüssigung nicht zu konstatieren und trocknete der verflüssigte Teil der Gelatine mehr und mehr ein.

Vergleicht man die Resultate mit denjenigen, welche bei der gehopften Würzelgelatine erhalten wurden (18—168 Tage), so ergiebt sich auch hier wieder, daß bei der Vorderwurzelgelatine die Verflüssigung im allgemeinen langsamer erfolgte.

Einzelne Hefen zeigen gute Uebereinstimmung, wie *S. Pastorianus* I mit 63 Tagen bei der gehopften Würzelgelatine gegenüber 60 bei der Vorderwurzelgelatine, Carlsberghefe No. 1 mit 98 Tagen in beiden Fällen, Stamm 7 mit 108 gegen 109 Tage, *S. Ludwigii* mit 119 gegen 118 Tage.

Bei anderen Hefen sind die Unterschiede etwas größer, jedoch immer noch verhältnismäßig gering, so bei *Schizos. Pombe* 63 gegen 79 Tage, Oberhefe Rio 107 gegen 119 Tage, Stamm 93 114 gegen 129 Tage.

Wie bei der gehopften Würzelgelatine gehören hier die obergärigen Bierhefen 28 und 170 zu denjenigen Arten, welche am schnellsten verflüssigen; überhaupt findet man in der ersten Hälfte der Reihe, ebenso wie in der zweiten, mit wenigen Ausnahmen, wenn auch in etwas anderer Folge, die gleichen Hefen wie in der gehopften Würzelgelatine. Den letzten Platz haben, wie gewöhnlich, *Mycoderma*, *S. Marxianus*, *S. membranaefaciens* und *S. apiculatus* erhalten.

Bei 13° C beträgt die Zeit, innerhalb welcher eine vollständige Verflüssigung der 10 ccm Gelatine beobachtet wurde, 62—501 Tage. *S. apiculatus* hatte nach 599 Tagen etwa erst 3 Vierteile der Gelatine verflüssigt, als alle Zellen abgestorben waren. Die eine der *Mycoderma*-Kulturen war, ohne zu verflüssigen, eingetrocknet, die zweite hatte nach 365 Tagen noch nicht $\frac{1}{3}$ der Gelatine verflüssigt. Lebende Zellen waren in derselben noch vorhanden.

Die beiden Kulturen von *S. Marxianus* wurden vom 22. Januar 1897 bis 16. November 1898 beobachtet. Die Verflüssigung war eine geringe und trocknete die Gelatine sehr stark ein, wodurch der Fortschritt im Abbau gehemmt wurde.

Wenn man die Zeiten vergleicht, innerhalb welcher die verschiedenen Hefenarten die gehopfte Würzelgelatine einerseits und die Vorderwurzelgelatine andererseits verflüssigen, so findet man, daß in letzterer einzelne derselben viel kürzere Zeit hierzu notwendig hatten. Die kürzeste Zeit, innerhalb welcher *S. anomalus* Hansen die 10 ccm gehopfte Würzelgelatine verflüssigt hatte, betrug 82 Tage gegenüber 62 Tagen bei der Vorderwurzelgelatine, bei Oberhefe Rio 84 gegenüber 63 Tagen, bei Carlsberghefe No. 1 230 gegenüber 75 Tagen, bei *S. ellipsoideus* I 110 Tage gegenüber 95, bei *S. Pastorianus* III 125 Tage gegenüber 98, bei Stamm 2 159 Tage gegenüber 145, bei *S. Pastorianus* I 223 Tage gegenüber 215, *S. ellipsoideus* II 271 Tage gegen-

über 278. Bei den übrigen Hefenarten ist die zur völligen Verflüssigung nötige Zeitdauer eine größere.

Während in der angeführten Reihe die Differenzen in der Zeitdauer gering sind und sich zum größten Teile innerhalb derjenigen bewegen, welche selbst zwischen Parallelkulturen bestehen können, sind dieselben in der zweiten Reihe bei der Mehrzahl größer und war in vielen Fällen etwa die doppelte Zeit, in einzelnen noch mehr, zur völligen Verflüssigung notwendig.

Auch hier findet man in beiden Fällen unter denjenigen Hefen, welche am schnellsten verflüssigten, mit wenigen Ausnahmen wieder die gleichen Arten.

Wie weit die Unterschiede in der Reihenfolge der Hefen in beiden Versuchsreihen auf die Methode der Impfung sowie die mit derselben zusammenhängenden Zufälligkeiten einerseits und auf eine Reaktion der Hefen gegenüber der Zusammensetzung des Substrates andererseits zurückzuführen sind, läßt sich zur Zeit nicht übersehen.

Kleinen Aenderungen in der Reihenfolge wird keine so große Bedeutung beizumessen sein. Der Hauptwert der Versuchsergebnisse liegt darin, daß im allgemeinen unter den gleichen Bedingungen immer wieder die gleichen Gruppen mit gleicher proteolytischer Energie zu erkennen sind.

In der Versuchsreihe mit gleichmäßiger Verteilung der Hefen in der Gelatine begann die Verflüssigung bei 20° C zwischen dem 16. und dem 156. Tage. Vergleicht man hiermit die Zeiten, nach welchen die gleichen Hefen bei der gleichen Temperatur die gehopfte Würzelgelatine zu verflüssigen begannen, so ergibt sich hier wieder bei der Vorderwurzelgelatine eine Verzögerung hinsichtlich des Beginnes der Verflüssigung, und zwar ist dieselbe in einzelnen Fällen relativ bedeutend, indem sie das Doppelte und noch mehr beträgt.

Auch in diesem Falle verflüssigten die obergärigen und die meisten untergärigen Bierhefen am schnellsten. Am Ende der Reihe stehen sowohl bei der Vorderwurzelgelatine wie bei der gehopften Würzelgelatine *S. Pastorianus* I und die immer wieder an dieser Stelle stehenden Hefen *S. Marxianus*, *S. membranaefaciens* sowie *Mycoderma*.

Die völlige Verflüssigung war innerhalb eines Zeitraumes von 4 und 240 Tagen beendet. Nicht vollständig verflüssigt wurde die Gelatine von *S. membranaefaciens*, bei welchem die Kulturen eintrockneten, nachdem nach Verlauf von 210 Tagen nur ein Drittel der Gelatine verflüssigt war. Bei *Mycoderma* war die Gelatine innerhalb 307 Tagen bis auf einen geringen Rest verflüssigt worden.

Vergleicht man die Tabelle, welche die Reihenfolge der Hefen in Hinsicht auf die Verflüssigung von gehopfter Würzelgelatine verzeichnet, mit der gleichen für die Vorderwurzelgelatine, so ergibt sich im allgemeinen eine Uebereinstimmung. Völlige Uebereinstimmung herrscht bezuglich derjenigen Hefen, welche in beiden Versuchsreihen die Gelatine am tragsten verflüssigten; man findet

hier neben *S. anomalus* Hansen und Will die bekannten Hefen *S. Ludwigii*, *Marxianus*, *membranaefaciens*, *apiculatus* sowie *Mycoderma* vor.

Während sich hinsichtlich des Beginnes der Verflüssigung bei der Vorderwurzelatine im allgemeinen eine Verzögerung bemerkbar macht, gilt dies nicht, wenigstens nicht für alle Hefen mit energischerer proteolytischer Wirkung, hinsichtlich der Zeiträume, innerhalb welcher die völlige Verflüssigung durchgeführt wird.

In der Gruppe derjenigen Hefen, welche im allgemeinen die Gelatine mit mäßiger Schnelligkeit verflüssigen, findet man sehr viele, bei welchen die Verflüssigung der Vorderwurzelatine viel rascher beendet wird als diejenige der gehopften Würzelatine. Bei vielen Hefen wird die Verflüssigung innerhalb der nahezu gleichen Zeit durchgeführt.

Die Energie, mit welcher *S. anomalus* auf die Gelatine einwirkte, war in beiden Fällen die gleiche (93 gegenüber 91 Tagen)

Bemerkenswert mag an dieser Stelle sein, daß, während bei allen anderen Hefen die verflüssigte Gelatine mehr oder minder sauer reagierte, die Reaktion der dünnflüssigen Gelatine bei *S. anomalus* Hansen eine schwach alkalische war.

Wie die Art und Weise, in welcher die Hefe in die Gelatine eingeführt wird, überhaupt von Bedeutung für die Schnelligkeit ist, mit welcher die Verflüssigung durchgeführt wird, so ist es dieselbe, wie der Versuch ergibt, besonders für die Verflüssigung der Vorderwurzelatine gegenüber der gehopften Würzelatine.

Die Bedingungen für die Proteolyse, für die Bildung des proteolytischen Enzyms und für dessen Wirkung sind, wie ich schon in der I. Mitteilung dargelegt habe, bei gleichmäßiger Verteilung der Hefe in der Gelatine günstiger als bei den Stickkulturen. Wie der Versuch zeigt, müssen aber in der Zusammensetzung der Vorderwurzelatine besondere Verhältnisse gegeben sein, welche die Entwicklung und Wirkung des proteolytischen Enzyms noch mehr beschleunigen als in der gehopften Würzelatine.

Wodurch diese für die Proteolyse in der Vorderwurzelatine günstigeren Bedingungen gegeben sind, dauber lassen sich zur Zeit nicht einmal Vermutungen aussprechen. Vielleicht ergeben sich aus den mit verschiedenen Stickstoffquellen, in verschiedenen Mengen der in Beziehung auf die übrigen Bestandteile gleich zusammengesetzten Nährlösung hinzugefügt, angestellten Versuche, wenn dieselben einmal abgeschlossen vorliegen, Gesichtspunkte für die Beurteilung der mit der Vorderwurzelatine erhaltenen Resultate.

Die Zeit, innerhalb welcher bei 13° C die Verflüssigung, soweit eine solche überhaupt eintrat, begann, bewegte sich zwischen 62 und 229 Tagen.

Die Kulturen von *S. cerevisiae* I gingen überhaupt nicht an, während diejenigen von wilder Hefe No. 1, *S. membranaefaciens* und Hefe Logos nach Entwicklung von Kolonien vertrockneten, ohne zu verflüssigen.

Mit gehopfter Würzelatine sind bei 13° C zwei Versuchsreihen

im Gange, die eine seit 1897, die andere seit 1898. Völlig abgeschlossen sind dieselben noch nicht. Die definitive Zusammenstellung der Resultate ist erst für die III. Mitteilung möglich.

Bei einer Versuchsreihe mit einer 3 Tage alten Einsaat bewegte sich die Zeit bis zum Beginn der Verflüssigung zwischen 31 und 162 Tagen. Die Verflüssigung trat also auch hier wieder viel früher ein.

In den beiden Fällen steht, wie auch bei dem bei 20° C durchgeführten Versuche, *S. apiculatus* an der Spitze.

Weiter findet man in der vordersten Reihe Oberhefe 25 mit 50 Tagen bei der gehopften Würzelatine gegen 74 bei der Vorderwurzelatine, *S. anomalus* Will mit 50 gegen 83 Tagen, Carlsberghefe No. 1 mit 68 gegen 83 Tage, Schizos. Pombe mit 68 gegen 83 Tage, Stamm 93 mit 77 gegen 86 Tage, Stamm 2 mit 77 gegen 90 Tage. Dann folgt Hefe Saaz mit 77 gegen 90 Tage, Hefe Froberg mit 68 gegen 90 Tage, Oberhefe Rio mit 77 gegen 90 Tage, wilde Hefe No. 2 mit 50 gegen 96 Tage, *S. anomalus* Hansen mit 50 gegen 96 Tage u. s. w. Jedenfalls spielt die Temperatur nicht nur bei der Entwicklung der einzelnen Hefenarten, sondern auch, wie die bei 5–6° C durchgeführten Versuche zeigen, in Beziehung auf die Bildung des proteolytischen Enzyms, eine sehr wichtige Rolle. Besondere Ernährungsverhältnisse mögen mit dazu beitragen, daß die untere Temperaturgrenze für die Bildung des Enzyms um einige Grade nach unten verschoben werden kann.

Die Zeit, welche zur völligen Verflüssigung von 10 ccm Vorderwurzelatine nötig war, bewegt sich zwischen 36 und 544 Tagen. Bei der gehopften Würzelatine waren bei der gleichen Temperatur bis zur völligen Verflüssigung der 10 ccm Gelatine 9 bis 444 Tage erforderlich.

Die *Mycoderma*-Kulturen hatten innerhalb 670 Tagen etwa $\frac{2}{3}$ der Gelatine verflüssigt und waren dann eingetrocknet.

Die Verflüssigung der Vorderwurzelatine nahm bei der niederen Temperatur bei den meisten Hefen mehr Zeit in Anspruch als diejenige der gehopften Würzelatine; einzelne Hefen verflüssigten die Vorderwurzelatine schneller, andere innerhalb nahezu der gleichen Zeit.

Unter denjenigen Hefen, welche die Vorderwurzelatine am schnellsten bei 13° C verflüssigten, findet man manche Arten wieder, welche bei den bei 20° C und bei den mit gehopfter Würzelatine bei 13° C durchgeführten Versuchen ebenfalls am Anfange der Reihe stehen.

Es sind dies die untergärigen Bierhefen Stamm 6, Stamm 2, Carlsberghefe No. 1 sowie die Hefen Saaz und Froberg. Auch Stamm 7 gehört in den 3 Versuchsreihen noch zu denjenigen Arten, welche die Gelatine verhältnismäßig rasch verflüssigen. Stamm 7 steht in den bei 13° C mit Vorderwürze- und gehopfter Würzelatine durchgeführten Versuchen in der Mitte der Reihe, während er bei 20° C mit Vorderwurzelatine die zweite Stelle einnimmt.

Die obergärigen Bierhefen verflüssigen mit Ausnahme von Oberhefe 28 die Vorderwurzelatine bei 13° C langsam und stehen dementsprechend in der Mitte bzw. nahe dem Ende der Reihe, während sie bei der gehopften Würzelatine mit Ausnahme von Oberhefe Rio in der vordersten Reihe stehen.

Den Schluß der Reihe bilden, wie gewöhnlich, *S. Ludwigii*, *S. Marxianus* und *Mycoderma*.

Im dritten Kapitel wird der Einfluß der Gelatinemenge auf die Verflüssigung bei gleichmäßiger Verteilung untersucht.

Zu Beginn der Studien über die Proteolyse durch Hefen wurde die in den Laboratorien zur Reinkultur, zu Plattenkulturen u. s. w. vorrätig gehaltene 10-proz. Bierwurzelatine verwendet.

Erwägungen verschiedener Art führten später dazu, einige Versuche mit einer kleinen Anzahl von Hefen unter Anwendung eines Nährsubstrates mit einem verschieden großen Zusatz von Gelatine durchzuführen.

Zunächst kam in Betracht, daß die Vermehrung der Hefe durch die Größe des Gelatinezusatzes beeinflusst wird, der Beginn der Verflüssigung aber von der Vermehrung und der Zeitdauer bis zur völligen Verflüssigung von dem Gehalte des Substrates von Gelatine abhängt.

Die Konsistenz des Nährbodens steht in direkter Beziehung zu der Menge der zugesetzten Gelatine einerseits und zur Beschaffenheit der Nährflüssigkeit andererseits.

Nach allen Beobachtungen war zu erwarten, daß die Konsistenz der Nährgelatine das Schluresultat ganz wesentlich modifizieren würde, insofern als die durch die Gärung verursachte Zerklüftung der Gelatine bei einem geringen Zusatz einen bedeutend größeren Umfang annehmen als bei einem größeren Zusatz.

Hierzu kommt noch, daß bei längerer Dauer der Versuche die Konzentration der Gelatine eine höhere wird und dann die Hefen nicht mehr auf die ursprüngliche 10-proz. Gelatine, sondern auf eine konzentriertere einwirken.

Zur Bereitung der Gelatine für die Versuche diente eine gewöhnliche gehopfte Lagerbierwurze von 14,5 Proz. Bllg. Zu je 100 cm Würze wurden 5, 10, 15 und 20 g bester Gelatine zugesetzt.

Zu einer ersten Versuchsreihe wurden die untergärigen Bierhefen Stamm 6 und 93, die Oberhefen Rio und 25, *S. ellipsoideus* I und *S. anomalus* Hansen, zu einer zweiten nochmals die Hefen Stamm 93, Oberhefe 25, *S. ellipsoideus* I, *S. anomalus* Hansen sowie *Mycoderma* Will, *S. Pastorianus* I, wilde Hefe No. 1 und 2 benutzt. Die Versuche wurden bei 20° C durchgeführt.

Bei der 20-proz. Gelatine war die Entwicklung der Hefe in den unteren Partien eine sehr mäßige bis geringe; speziell war letzteres der Fall bei Oberhefe 25 und Rio. Die Kulturen unterschieden sich hierdurch sehr wesentlich von denjenigen mit einem geringeren Gelatinezusatz als 15 Proz.

Der Beginn und Verlauf der Verflüssigung wird, wie näher in

der Originalabhandlung dargelegt ist, sehr wesentlich durch zufällige Umstände, wie durch den geringeren oder stärkeren Grad der Zerklüftung, beeinflusst. Im übrigen ist auch hier bei den Substraten mit größerem Gelatinezusatz der normale Verlauf der Verflüssigung der gleiche, wie er in der I. Mitteilung für die 10-proz. Würzelgelatine eingehend beschrieben wurde. Die in Beziehung auf die Kulturen mit 20-proz. Gelatine gemachten allgemeinen Bemerkungen treffen auch für die Kulturen in 15-proz. Würzelgelatine zu.

Wie der direkte Vergleich ergab, blieben die Kulturen in der 15-proz. Gelatine hinter den gleichalterigen in der 10-proz. hinsichtlich der Entwicklung zurück.

In den meisten Fällen war in der 15-proz. Gelatine der Beginn und zum Teil auch der Verlauf der Verflüssigung ein mehr oder weniger normaler.

Sehr klar und übersichtlich in Beziehung auf die mehr oder minder reichliche Entwicklung von Hefe in den unteren Parteien der Gelatine war die Reihenfolge der Kulturen von *S. ellipsoideus* I. Die Kulturen in 20-proz. Gelatine zeigten keine Trübung, sie erschienen nahezu klar, in 15-proz. schwach getrübt, in 10-proz. stärker und in 6-proz. sehr stark getrübt. In letzterem Falle besaß die Gelatine eine schwammige, fast zähflüssige Beschaffenheit, verursacht durch die lebhaft entwickelte Kohlensäureentwicklung, welche hier nicht zu einer Zerklüftung der Gelatine, sondern zu einer bedeutenden Volumzunahme führte.

Bei den Kulturen in 5-proz. Gelatine ist die Vermehrung am stärksten, gleichzeitig ist es aber auch die Zerklüftung. Die Gelatine nimmt in den meisten Fällen in größerer oder geringerer Ausdehnung eine schwammige Beschaffenheit an. Die gleiche Kultur kann in verschiedenen Parteien der Gelatine je nach der Entwicklung der Hefe eine verschiedene Beschaffenheit besitzen.

Die schwammige Beschaffenheit der Gelatine beeinflusst den Gang der Verflüssigung ganz bedeutend. Obwohl die sehr stark aufgetriebenen Parteien der Gelatine bald mehr, bald weniger erweichen, werden die nicht schwammigen eher dünnflüssig; sie werden offenbar rascher abgebaut als die schwammigen.

In den schwammigen, stark aufgetriebenen Parteien der Gelatine beginnt nicht selten die Verflüssigung gleichzeitig an verschiedenen Stellen und breitet sich dann in kanalformigen Höhlungen weiter aus.

Der Einfluß der Gelatinemenge im Substrate auf die Proteolyse bei gleichmäßiger Verteilung der Hefe macht sich nach den vorliegenden Versuchen nach zwei Richtungen hin geltend.

1) In Beziehung auf die Vermehrung. Je größer der Gelatinezusatz ist, desto schlechter vermehrt sich die Hefe bzw. desto eher steht die Vermehrung still. Je geringer die zugesetzte Gelatinemenge ist, desto stärker vermehrt sich die Hefe.

Findet keine entsprechende Vermehrung in den unteren Parteien der Gelatine statt, so erfolgt die Verflüssigung von oben

her. Der Zeitpunkt des Beginnes der Verflüssigung wird hierdurch wesentlich beeinflußt.

Die Verflüssigung der Gelatine tritt nach allen bisherigen Beobachtungen erst nach einer gewissen Vermehrung ein, die unter gleichen Verhältnissen bei höherer Temperatur rascher vor sich geht als bei niederer.

Bei vielen Hefen scheint ein 10-proz. und ein 5-proz. Gelatinezusatz in gleicher Weise, und zwar günstig zu wirken, während ein 15-proz. Zusatz vielfach schon die Vermehrung und damit den Eintritt der Verflüssigung sehr ungünstig beeinflußt.

Da eine 5-proz. Würzelgelatine infolge der geringen Konsistenz durch die Gärung sehr unangenehme Nebenerscheinungen zeigt, erscheint nach den Versuchsergebnissen, wenigstens für Würzelgelatine, ein Zusatz von 10-proz. Gelatine als der geeignetste.

2) In Beziehung auf die Zerklüftung des Substrates.

Je höher der Gelatinezusatz ist und je langsamer und weniger dementsprechend die Hefe sich vermehrt, desto weniger wird im allgemeinen die Gelatine durch die Gärungserscheinungen zerklüftet und desto weniger tritt eine Verzögerung der Verflüssigung ein.

Durch diese Erscheinung wird bis zu einem gewissen Grade den nachteiligen Folgen der schlechten Vermehrung entgegen gewirkt.

Eine Zerklüftung und Rissebildung kann bei den konzentrierteren Gelatinen auch frühzeitig durch Austrocknen eintreten. Umgekehrt wird bei geringerem Zusatz die Gelatine sehr stark zerklüftet; das weiche Substrat wird bei einem Zusatz von 5 Proz. geradezu schwammig.

Die offenbar bestehenden Gesetzmäßigkeiten der Proteolyse in ihrer Abhängigkeit von der Gelatinemenge werden hierdurch mehr oder weniger verwischt.

Der Verlauf der Verflüssigung kann bei schwammig gewordener Gelatine auch dann noch ein normaler sein, wenn die oberen Partien derselben dicht anschließen und Luft nicht eintreten lassen.

Im vierten Kapitel werden Versuche über den eventuellen Einfluß des Alters der eingesäten Hefe auf die Zeit bis zum Beginne der Verflüssigung mitgeteilt.

Verschiedene Beobachtungen führten, da bei Anwendung von 10-proz. gehopfter Würzelgelatine entgegen den Beobachtungen Anderer sich unter gleichen äußeren Bedingungen größere Verschiedenheiten zwischen den zu verschiedenen Zeiten zubereiteten Substraten sich nicht ergeben hatten, zunächst zu der Annahme, daß außer den früher angeführten Faktoren auch das Alter der eingesäten Hefen von Einfluß auf den Beginn der Verflüssigung ist.

Die Versuchshefen wurden bei 25° C vermehrt; es erschien daher nicht unmöglich, daß älteres Einsaatmaterial schon wieder etwas geschwächt ist und sich deshalb bei niederer Temperatur und unter den ungünstigen Bedingungen, wie sie der Einschluf in die Gelatine bietet, die Vermehrung langsamer vollzieht. Alle bis jetzt vorliegenden Beobachtungen, speziell diejenigen bei

niederer Temperatur, sprechen aber dafür, daß eine gewisse Massenentwicklung in den unteren Partien der Gelatine bei gleichmäßiger Verteilung der Einsaathefe erreicht sein muß, wenn die Verflüssigung in der früher beschriebenen Weise verlaufen soll.

Wird dieser Entwicklungsgrad bei niedriger Temperatur infolge irgendwelcher Verhältnisse nicht erreicht, so sterben die Zellen in den unteren Partien der Gelatine ab, ohne daß hierdurch eine Verflüssigung unterhalb der Zone des stärksten Wachstums eingeleitet wird. Vielmehr beginnt dann häufig die Verflüssigung von der Oberfläche her, d. h. da, wo der meist starke Hefebelag der Gelatine aufsitzt. Es tritt nur da Verflüssigung ein, wo starke Hefeentwicklung stattgefunden hat. Dies ist aber nur auf der Oberfläche der Gelatine oder bei Zerklüftung der letzteren auf den Spaltflächen der Fall.

Bei höherer Temperatur war wohl eine große Verschiedenheit hinsichtlich des Beginnes der Verflüssigung bei verschiedenem Alter der Einsaat kaum zu erwarten, da die ungünstigere Beschaffenheit derselben rascher wieder ausgeglichen wird.

Durch einen Versuch, welcher sich methodisch den bisherigen streng anschloß, sollte entschieden werden, ob diese Annahme berechtigt war. Derselbe wurde bei 20° C und 12° C angestellt. Als Substrat diente im ersten Falle eine gehopfte Würze von 13,5 Proz., im letzteren eine solche von 14,4 Proz. Bllg., welche je einen Zusatz von 10 Proz. der gewöhnlich verwendeten Gelatine erhielt.

Zum Versuche dienten die Hefen Stamm 2, 7, Frohberg, Oberhefe 25, 28 und Rio.

Zunächst impfte man die Hefen gleichzeitig auf je 3 Würzekölbchen und blieben letztere verschiedene Zeit lang bei Zimmertemperatur stehen. Von den gut entwickelten Bodensätzen wurde, wie in der I. Mitteilung angegeben, je eine Platinöse voll in der verflüssigten Gelatine möglichst gleichmäßig verteilt und letztere möglichst rasch wieder zum Erstarren gebracht. In der bei 20° C durchgeführten Versuchsreihe geschah die erste Einsaat, nachdem die Hefen 3 Tage in der Würze gegoren hatten; die Zellen waren sehr kräftig, sehr glykogenreich, insbesondere auch diejenigen von Stamm 7.

Eine zweite Reihe von Reagenzgläsern wurde mit den Hefen nach 6-tägigem Aufenthalte in der Würze geimpft. Die Menge des Glykogens war bei einigen der Hefen etwas zurückgegangen, die Zellen der Oberhefe 25 erschienen meist frei von demselben. Die dritte Impfung wurde vorgenommen, nachdem die 3 Kulturen 14 Tage alt geworden waren. Die Hefen zeigten ein sehr verschiedenes Aussehen.

Bei der zweiten bei 12° C durchgeführten Versuchsreihe konnte nicht, wie beabsichtigt, die erste Serie der Kulturen nach Verlauf der gleichen Zeit wie bei der ersten geimpft werden, sondern mußte dies schon am 2. Tage geschehen. Einzelne der Hefen befanden sich daher noch in Gärung. Die Zellen aller Hefen

waren sehr reich an Glykogen und befanden sich auch sonst in guter Verfassung.

Die Einsaat in die 2. und 3. Reihe von Reagenzgläsern wurde nach Ablauf der gleichen Zeit wie bei der 1. Versuchsreihe vorgenommen.

Nach 6 Tagen befanden sich in diesem Falle die Versuchshefen im allgemeinen noch in guter Verfassung. Von einem Hungerzustande konnte nicht die Rede sein. Die meisten Hefen enthielten noch ziemlich viel Glykogen.

Die Zellen der 14 Tage alten Einsaat hungerten mehr oder weniger stark.

Zur richtigen Beurteilung der mitgetheilten Versuchsergebnisse erscheint es notwendig, auf die Entwicklung der Kulturen und die dabei aufgetretenen Nebenerscheinungen etwas näher einzugehen.

In der ersten bei 20° C durchgeführten Versuchsreihe entwickelt sich die Hefe bei der 3 Tage alten Einsaat sehr gut und waren auch sämtliche Kulturen sehr stark zerklüftet. Die Verflüssigung begann und verlief nur bei Oberhefe 25 normal.

Die Kulturen mit der 6 Tage alten Einsaat waren zum Teil stark, zum Teil sehr stark zerklüftet. Der Beginn und Verlauf der Verflüssigung war hier ebenfalls nur bei Oberhefe 25 in beiden Parallelkulturen trotz der Zerklüftung ein normaler, bei Oberhefe Rio und 28 nur in der einen derselben.

Ein Einfluß des Alters der Einsaat auf die Entwicklung der Hefekolonieen in den unteren Partien der Gelatine wurde nicht beobachtet, obgleich ein solcher erwartet wurde.

Noch stärker als bei den Kulturen mit der 3 und 6 Tage alten Einsaat war die Zerklüftung der Gelatine bei den Kulturen mit der 14 Tage alten. Dieselbe hing offenbar mit dem Alter der Einsaat zusammen.

Die Gärkraft älterer Hefe, welche durch Selbstgärung bereits einen Teil ihrer Reservestoffe aufgezehrt hat, ist nach meinen Beobachtungen, die später durch die Untersuchungen von C. J. Lintner¹⁾ Bestätigung fanden, eine viel größere als bei jüngeren bezw. frischen Hefen; die Kohlensäureentwicklung ist eine viel lebhaftere und dementsprechend wird auch die Gelatine stärker zerklüftet.

Während bei Oberhefe 25 für die 3 Einsaaten bei 20° C die Zeitdauer bis zum Beginne der Verflüssigung gleich ist und mit der früher durchschnittlich beobachteten übereinstimmt, steigt dieselbe bei Hefe Froberg bei der zweiten Einsaat um 5 und bei der dritten um 7 Tage; in der zweiten Parallelkultur steht dieselbe allerdings auf der gleichen Höhe wie bei der ersten Einsaat.

Aehnlich wie Hefe Froberg verhält sich Oberhefe 28 und Rio, auch sind die Unterschiede geringer. Bei Stamm 2 werden letztere bei den älteren Einsaaten wieder größer und steigen bis zu 4 bezw. 6 Tagen, bei der 6 bezw. 14 Tage alten Einsaat über die Durchschnittszahl.

1) Studien über Selbstgärung der Hefe. (Centralbl. f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. V. 1899. No. 23. p. 796.)

Stamm 7 zeigt teilweise ein bedeutendes Ansteigen bei der zweiten Einsaat, das sich auch bei der dritten Einsaat auf der gleichen Höhle hält.

In einzelnen Fällen, besonders bei solchen Hefenarten, welche rasch in den Hungerzustand übergehen und sich langsam vermehren, mag wohl das Alter der Einsaat auf den Beginn der Verflüssigung einen gewissen Einfluß ausüben. Derselbe wird aber jedenfalls viel mehr durch die mit der rascheren Vermehrung der Hefe und mit der lebhafteren Gärung verbundenen Nebenerscheinungen, wesentlich durch die Zerklüftung der Gelatine, die sichtlich bei älterem Einsaatmaterial in noch ausgedehnterem Maße auftreten als bei jüngerem, beeinträchtigt.

Vollzieht sich die Verflüssigung unterhalb einer sekundären Zone stärksten Wachstums, so bedarf es jedesmal einer gewissen Zeit, bis sich letztere entwickelt hat. Bei höherer Temperatur vermehrt sich aber die Hefe viel rascher und werden damit gegenüber dem normalen typischen Verlaufe die Zeitunterschiede, welche in den Nebenerscheinungen, ebenso wie solche, welche etwa in dem Alter der Einsaat begründet sind, geringer.

Bei niederer Temperatur und der damit in Zusammenhang stehenden langsameren Vermehrung liegen dagegen die Verhältnisse in mancher Beziehung anders. Wenn auch nicht in allen Fällen, so war doch bei sehr vielen der Versuche die Zerklüftung der Gelatine durch die sichtlich langsamere Entwicklung der Hefe und die langsamer sich vollziehende Gärung im allgemeinen nur eine geringe bis mäßige. Speziell die obergärigen Hefen 25, 28 und Rio zeichneten sich bei den 3 Versuchsreihen in dieser Richtung aus, wenngleich die beiden Parallelkulturen mehr oder minder voneinander abwichen und auch eine geringe Steigerung der Zerklüftung mit der Zunahme des Alters der Einsaat unverkennbar war.

Die Verflüssigung begann in den weitaus meisten Fällen in Spalten der zerklüfteten Gelatine. Wo dieselbe in mehr oder minder normaler typischer Weise erfolgte, wie bei Oberhefe 25 und 28, stimmen die für die Zeitdauer bis zum Beginne der Verflüssigung erhaltenen Zahlen gut mit den früher bei normaler Verflüssigung erhaltenen überein. Je stärker die Zerklüftung der Gelatine ist und je mehr die Luft zu den Spalten hinzutreten kann, desto mehr weichen die erhaltenen Zahlen von den bei normaler Verflüssigung erhaltenen ab.

Eine Steigerung der Zerklüftung mit zunehmendem Alter der Einsaat läßt sich bei dem zweiten, bei niederer Temperatur durchgeführten Versuche nicht so deutlich erkennen wie beim ersten bei höherer Temperatur angestellten.

In Beziehung auf die Zerklüftung spielt wahrscheinlich auch die Einsaatmenge eine wichtige Rolle.

Im fünften Kapitel wird die Frage behandelt, ob es lebende oder absterbende Zellen sind, welche die Verflüssigung der Gelatine herbeiführen.

In meiner I. Mitteilung habe ich darzuthun versucht, daß die

Verflüssigung der Gelatine entgegen der Anschauung von M. W. Beijerinck nicht eine Funktion langsam absterbender, sondern normaler Zellen ist. Die Begründung dieser Anschauung stützte sich schon damals auf sehr eingehende, speziell nach dieser Richtung hin unternommene Studien. Bald nach meiner I. Mitteilung erschien eine Arbeit von M. W. Beijerinck: Ueber Regeneration der Sporenbildung bei Alkoholhefen, wo diese Funktion im Verschwinden begriffen ist¹⁾, in welcher er gelegentlich auf die Verflüssigung der Gelatine durch Hefen zurückkommt und an der früher ausgesprochenen Anschauung festhält, daß die Proteolyse bei den Alkoholhefen ein nekrobiotischer Vorgang ist. Es müssen deshalb sporenbildende Zellen, wenn das nicht für die Sporenbildung verbrauchte Protoplasma darin abstirbt, proteolytisch wirken.

Durch Uebergieen einer Koloniekultur auf Wurzelatineplatte von irgend einer schwer verflüssigenden und zähe zusammenhängenden Hefe mit einer sehr verdünnten Jodlösung (oder irgend einem anderen Gift) könne man sich leicht von der Richtigkeit der Anschauung Beijerinck's überzeugen.

Zur Prüfung der Angaben von Beijerinck wurden einige Versuche mit Plattenkulturen ausgeführt, und zwar wurden dieselben mit Rücksicht auf eine Reihe von Vorversuchen an den Kulturen mit zunehmendem Alter angestellt.

Zur Verwendung kamen die Hefen Stamm 2, Oberhefe Rio, *S. cerevisiae* I Hansen, *S. Marxianus* Hansen, *S. anomalus* Hansen und *Mycoderma* Will.

Zur Abtötung der Zellen wurde eine Jodjodkaliumlösung angewendet. Beijerinck spricht nur von einer sehr „verdünnten Jodlösung“, macht also über die Konzentration keine näheren Angaben. Es wurden daher folgende Konzentrationen benutzt: 0,25, 0,025 und 0,0025 Proz. Jod.

Bezüglich der Einzelheiten der Ausführung des Versuches und der dabei gemachten Beobachtungen sei auf die Originalabhandlung verwiesen.

Als Hauptresultat ergab sich, daß, abgesehen von *S. anomalus*, eine Verflüssigung von Würzelatine durch Hefe in gewöhnlicher Plattenkultur auch bei längerer Beobachtung selbst dann nicht auftritt, wenn Sporen gebildet werden.

Eine Verflüssigung der Gelatine konnte durch Abtötung der Zellen mittels Jodlösung in keiner der verwendeten Altersstufen (5 Tage bis 3 Monate) herbeigeführt werden.

Bei leicht verflüssigenden Hefenarten kann durch die Behandlung mit schwächeren Jodlösungen die Proteolyse etwas beschleunigt werden. Die Ursache dieser Beschleunigung liegt nicht in der Abtötung der Hefezellen, sondern in der Wasseraufnahme der Gelatine. Diese Beschleunigung tritt jedoch nach den bisherigen Beobachtungen nur dann ein, wenn sich die Zellen in

1) Centralbl. f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. IV. 1898. p. 723.

dem Stadium befinden, in welchem sie auch ohne Wasserzufuhr nahe daran sind, die Gelatine zu verflüssigen.

Sind die Zellen abgetötet, so erfolgt keine Verflüssigung. Die mit einer 0,25-proz. Jodlösung behandelten Partien der Würzelatine verflüssigen, soweit die Beobachtungen reichen, überhaupt nicht mehr.

Nach der Abtötung der Hefekolonien mittels Jodlösung, überhaupt bei der Abtötung oder beim Absterben größerer Hefemassen treten Erscheinungen auf, welche eine Verflüssigung der Gelatine vortäuschen können. Die Hefe wird nämlich schleimig und können sogar im wasserdampfgesättigten Raume durch starkes Aufquellen einzelner Partien der Kolonien „Schleimhöfe“ um die Hefekolonien entstehen.

Ein Beweis dafür, daß in diesem Falle keine Verflüssigung stattgefunden hat, liegt darin, daß diese Erscheinung an die Kolonien gebunden ist und nicht über dieselben hinausgreift. Bei der Proteolyse, wie sie bei *S. anomalus* u. s. w. in Plattenkulturen, sowie bei Riesenkolonien verläuft, wird auch die Gelatine in der weiteren Umgebung der Kolonien früher oder später verflüssigt.

Die Hefenarten, welche die Gelatine in Plattenkulturen sehr rasch verflüssigen, wie *S. anomalus* und *S. membranefaciens*, würden sich ganz vorzüglich zur Entscheidung der Frage eignen, ob lebende oder tote bzw. absterbende Zellen die Ursache der Verflüssigung der Gelatine sind. Wenn die Kulturen in der Böttcher'schen feuchten Kammer angestellt werden, ist der Verlauf der Verflüssigung so übersichtlich, daß leicht die Beschaffenheit der einzelnen Zellen konstatiert werden kann. Da jedoch bei den meisten *Anomalus*-Varietäten eine ausgiebige Sporenbildung stattfindet und Beijerinck auch diese für die Proteolyse in Anspruch nimmt, sind dieselben bis auf wenige Ausnahmen nicht beweiskräftig.

Die von *S. Steuber* beschriebenen Varietäten III und IV von *S. anomalus*¹⁾ entwickeln nur wenige Sporen und wurden deshalb auch mit diesem Versuche angestellt. Die Verflüssigung war insbesondere bei *S. anomalus* IV am 6. Tage eine sehr ausgiebige. Tote Zellen fanden sich in den Kolonien nicht oder höchstens in Spuren vor. Sporen hatten sich bei *S. anomalus* IV in keiner der Kolonien gebildet, bei *S. anomalus* III fanden sie sich nur sporadisch vor. Für die Proteolyse kamen letztere keineswegs in Betracht, da die Verflüssigung sicher schon früher begonnen hatte, als in den Zellen die Sporenbildung eingeleitet wurde. Damit war der direkte Beweis geliefert, daß lebende, vegetative und in bester Verfassung befindliche normale Hefezellen unter gewissen Bedingungen imstande sind, Gelatine zu verflüssigen, also außerhalb der Zelle proteolytisch zu wirken.

Der von *Hahn* und *Geret*²⁾ als allgemein gültig aufgestellte

1) Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. 1900. p. 3; vergl. dies. Zeitschr. II. Abt. Bd. VI. 1900. p. 217.

2) Zeitschr. f. Biologie. Bd. XL. p. 117.

Satz, daß das proteolytische Enzym durch normale Zellen nicht secerniert wird, muß also mindestens in Hinsicht auf die zu dem Versuch verwendeten *Anomalus*-Varietäten eine Einschränkung erfahren.

Hahn und Geret führen die Proteolyse auf ein Ersticken der Hefezellen, also auf einen pathologischen Vorgang zurück.

Wenn auch eine Verallgemeinerung der mit *S. anomalus* III und IV erhaltenen Resultate zunächst nicht zulässig erscheint, so sprechen doch die an den übrigen Hefen gemachten Beobachtungen ebenfalls dafür, daß unter bestimmten, allerdings noch nicht vollständig erkannten Bedingungen die Verflüssigung der Gelatine eine Funktion normaler Zellen ist.

Nach zahlreichen Zählungen besteht bei der gleichen und bei verschiedenen Hefen keine Korrelation zwischen der Anzahl der toten Zellen und dem Grade des Abbaues der Gelatine in der Weise, daß dem größten Prozentsatz an toten Zellen auch der weitgehendste Abbau der Gelatine, also die Schnelligkeit, mit welcher verflüssigt wird, entspricht.

Mit abnehmendem Maltosegehalt des Nährsubstrates wird im Gegensatz zu den Voraussetzungen von Hahn und Geret der Beginn der Verflüssigung nicht beschleunigt, sondern im allgemeinen verzögert.

Die neuen, in der Originalabhandlung mitgeteilten Thatsachen, welche sich auf die Zählung der toten Hefezellen in den verschiedenen Schichten der Gelatine bei Beginn der Verflüssigung beziehen, entsprechen nicht der Annahme von Hahn und Geret.

Nach der Zahl und der Verteilung der toten (offenbar erstickten) Zellen in den verschiedenen Schichten der Kultur müßte, wenn die Verflüssigung auf einen pathologischen oder einen nekrobiotischen Vorgang zurückzuführen wäre, die Verflüssigung eher von unten und nicht von oben her beginnen.

Im Gegensatz zu den Angaben von Hahn und Geret und in Uebereinstimmung mit denjenigen von Beijerinck sprechen gewisse, in der Originalabhandlung mitgeteilte Beobachtungen an Stickskulturen, welche bei niederer Temperatur gehalten wurden, für die Diffusionsfähigkeit des die Verflüssigung durch Hefe veranlassenden Körpers.

Referate.

Buchner, E. und Bapp, R., Alkoholische Gärung ohne Hefezellen. [10. Mitteilung.] (Ber. deutsch. chem. Gesellsch. Jahrg. XXXIV. 1901. p. 1523—1530.)

In der 8. Mitteilung wurde berichtet, daß im Vakuum eingedampfter und sehr sorgfältig über Schwefelsäure getrockneter Preßsaft ohne Einbuße an Gärkraft 1 und 2 Monate aufbewahrt werden konnte. Mit demselben Präparat war nach 5, 7 $\frac{1}{2}$, und

12 Monate langem Lagern in einem Stöpselglas abermals keine wesentliche Abnahme der Gärkraft nachzuweisen.

Geringe Zusätze von neutral reagierenden Elektrolyten haben oft einen sehr störenden Einfluß auf die Enzyme. Ganz analog beeinflussen manche Salzzusätze das wirksame Agens des frischen Hefepreßsaftes in hohem Grade. Zusatz von 1 Proz. Natrium- oder Ammoniumchlorid, welche unter sich gleich stark wirken, stört die Gärkraft zwar wenig, aber doch deutlich; viel schädlicher wirken die Sulfate des Natriums, Ammoniums, Magnesiums und Natriumnitrat, welche in 1-proz. Lösung ungefähr ebenso hindern, wie Gaben von 2 Proz. Natrium- und Ammoniumchlorid. Noch größere Störungen verursacht Zusatz von 1 Proz. Calciumchlorid und besonders von 2 Proz. dieses Körpers, wogegen 1 Proz. Baryumchlorid kaum einen Einfluß, 2 Proz. nur einen mäßig schädigenden Einfluß ausüben. Die Beobachtungen sind für Rohr- und Traubenzucker zutreffend; ob auch für andere als die gewählten Konzentrationen des Kohlehydrates, andere Temperaturen etc. bleibt fraglich.

Versetzt man frischen Hefepreßsaft mit salpétrigsauren Salzen, so tritt eine beträchtliche Stickstoffentwicklung ein. 20 ccm Saft lieferten nach Zusatz von 1 g Natriumnitrit innerhalb 4 Tagen bei Zimmertemperatur 75 ccm über Natronlauge aufgefangenes Gas, welches sich als reiner Stickstoff erwies.

Eine Untersuchung über die Bildung von Glycerin und Bernsteinsäure bei der zellenfreien Gärung konnte eine Entscheidung darüber bringen, ob die Anschauung Pasteur's richtig sei, welcher die beiden Säuren als „konstante Produkte der Gärung“ auffaßte, oder diejenige von Müller-Thurgau, welcher vermutete, daß diese Substanzen überhaupt nicht direkt beim Zerfall des Zuckers entstehen. Dabei war eine Reihe von experimentellen Schwierigkeiten zu überwinden. Da die Nebenprodukte überhaupt nur in geringer Menge entstehen, mußten bei der zellenfreien Gärung 100 g Zucker vergoren werden; hierzu waren aber 1250 ccm Preßsaft notwendig von einem Trockenrückstand von etwa 160 g, aus welchem dann schließlich die geringen Mengen von Glycerin und Bernsteinsäure ausgezogen werden mußten. Um den Versuch innerhalb eines Tages bei vollständiger Vergärung des Zuckers beenden zu können, benutzten Verf. eine Temperatur von 23° C und setzten arsenige Säure zu, wodurch die Intensität des Gärungsvorganges beschleunigt wird. Eine vollständige Antisepsis war durch einen derartigen Arsenikzusatz nicht verbürgt und beeinflußt die Gegenwart der auch im vorliegenden Versuch nachgewiesenen lebenden Hefezellen (durchschnittlich 25 lebende Hefezellen in 1 ccm) natürlich das Resultat.

Zur Glycerinbestimmung kam die von Soxhlet-Graf Törring empfohlene Vakuumdestillation, kombiniert mit der Diez-Baumann'schen Ueberführung in Di- und Tri-Bonzoat, zur Anwendung. Die Bernsteinsäure wurde unter gewissen Abänderungen nach Straub, Rau und Hilger als Silbersalz gewogen.

Nach Abzug der im Preßsaft schon ursprünglich vorhandenen

Mengen an Alkohol, Glycerin und Bernsteinsäure wurden nach der Gärung gefunden: 50,4 g Alkohol, 0,5 g Glycerin und 0,3 g Bernsteinsäure.

Die bei der Gärung mit Preßsaft beobachteten Mengen von Nebenprodukten sind niedriger, als sie Pasteur durch lebende Hefe erhielt; sie sind ungefähr eben so niedrig als die Minima, welche seither überhaupt gefunden wurden. Daß die ermittelten Zahlen nicht wesentlich hinter der Wirklichkeit zurückbleiben, dafür bürgt der Kontrollversuch; Verff. halten es im Gegenteil für wahrscheinlich, daß sie zu hoch ausgefallen sind, weil die Gärung nicht zellenfrei verlief. Insbesondere haben sie auch gegen die Bernsteinsäurebestimmung Bedenken, da es nicht gelang, aus dem „bernsteinsäuren Silber“ des Hauptversuches krystallisierte Bernsteinsäure zu gewinnen.

Verff. beabsichtigen, noch einen weiteren Versuch über die Bildung von Nebenprodukten bei einer Gärung durch mit Alkoholäther getötete Hefe unter Zusatz von Toluol auszuführen.

H. Will (München).

Brefeld, O., Ueber die geschlechtlichen und ungeschlechtlichen Fruchtformen bei den kopulierenden Pilzen. (Sonderabdr. a. d. Jahresber. d. Schles. Gesellsch. f. vaterländ. Kultur. Breslau 1901. Sitzung vom 13. Dez. 1900. 14 p.)

Nach den grundlegenden früheren Untersuchungen des Verf.'s, des Begründers des natürlichen Systems der Pilze, sind die höheren Pilze apogamische Formen, die, von den geschlechtlichen Zygomyceten abstammend, die geschlechtliche Fruktifikation völlig eingebüßt haben, deren ungeschlechtliche Fruktifikationsformen aber in einfachster und natürlichster Weise aus den entsprechenden Fruchtformen (Sporangien, Schließsporangien, Chlamydosporen) jener Algenpilze abgeleitet werden können. Auch in der Entwicklungsreihe der Zygomyceten macht sich aber schon eine größere Differenzierung der asexuellen Fortpflanzungsorgane und eine Bevorzugung derselben den verhältnismäßig gleichförmigen geschlechtlichen Fortpflanzungsorganen gegenüber geltend.

Nur *Sporodinia grandis* zeigt unter den kopulierenden Pilzen noch regelmäßige Zygotenbildung neben der Bildung ungeschlechtlicher Fruchtträger und in gleichem Maße wie letztere; bei den übrigen Zygomyceten gelangen die Zygoten zu Gunsten der ungeschlechtlichen Fruktifikation nur selten oder nicht mehr zur Ausbildung. Bei *Sporodinia grandis* war es nach Klebs' ersten Versuchen dem Assistenten des Verf.'s, R. Falck, gelungen, in künstlicher Kultur willkürlich ein Ueberwiegen der geschlechtlichen oder der ungeschlechtlichen Fruktifikation herbeizuführen. Verf. hat nun durch dieselben Mittel, durch die eine einseitige Bevorzugung der Zygotenbildung bei *Sporodinia* herbeigeführt wurde, versucht, auch andere Zygomyceten, wie *Phycomyces*, mehrere *Mucor*- und *Chlamydomucor*-Arten, *Rhizopus*, *Thamnidium*, *Chaetocladium* zur Zygotenbildung zu bringen;

es kam aber in allen diesen Fällen nie zur Kopulation, so daß es scheint, daß auch bei den nächsten Verwandten der kopulierenden Zygomyceten die Geschlechtlichkeit mit ihren Fruchtformen bereits aus dem Entwicklungsgang verschwunden ist.

Verf. wendet sich zum Schluß gegen die neueren Versuche, die Sexualität der höheren Pilze zu retten und kommt in überzeugender Weise zu dem Schluß, daß es bei ihnen weder eine Pollinodiumsexualität (wie sie Harper wieder gefunden zu haben meinte), noch eine Spermatiensexualität bei den Pilzen giebt. Auch die Laboulbeniaceen sind echte Ascomyceten, zu den Pyxidiphoreen gehörig (wovon sich auch Ref. neuerdings überzeugte) und ihre „Spermatien“ wie bei den letzteren in Wirklichkeit Conidien.

Ludwig (Greiz).

Gruner, M., Biologische Untersuchungen an Schaumcikaden (Gatt. *Aphrophora* Germ. und *Philaenus Stål*). [Inaug.-Diss.] 36 p. 1 Tafel. Berlin 1901.

Die Arbeit untersucht Beschaffenheit, Herkunft und Erzeugung des Aftersekretes der Schaumcikaden auf experimentellem Wege. Ein historisches Kapitel deckt den Wandel der bei Isidor von Sevilla zuerst sich findenden Anschauungen über den „Kukuksspeichel“ auf, die mit der zuerst von de Geer aufgestellten richtigen Meinung abschließen, daß dieser Stoff aus Blasen von einer dem After entstammenden Flüssigkeit besteht. Hierbei wirkt ein vom Verf. genauer beschriebener Mechanismus mit, dessen Hauptbestandteil eine von den Tergitwülsten des 8. und 9. Abdominalsegmentes und den zugehörigen Sterniten gebildete Tasche ist. In diese fließen einzelne durch rhythmische Hinterleibsbewegungen aus dem After gepreßte Darminhaltstropfen, und zwar längs einer besonderen Kerbe im 11. Abdominalsternite. In der Tasche als einem Sammelbehälter wird die ursprünglich klare Flüssigkeit durch die aus zwei Tracheenmündungen hervordringende Luft in Schaum verwandelt, die einzelnen Schaumkügelchen aber durch seitliche Bewegungen der Tergitwülste nach außen befördert. So bildet sich in kurzer Zeit eine Hülle von Schaumblasen, in der das Tier unsichtbar wird, doch ragt das Hinterleibsende mit den in ihm liegenden Stigmen zum Zwecke der Atmung aus der Schaummasse hervor. Die Benetzung des Abdomens mit der Afterflüssigkeit dürfte durch das wachsartige Ausscheidungsprodukt einer großen Anzahl langcylindrischer, zu Drüsenzellen umgewandelter Hypodermiszellen der Seitenpartie des 7. und 8. Segmentes verhindert werden, das durch Porenkanälchen der Chitinhaut hindurch abgesondert wird. — Ueber die Chemie des Kukuksspeichels brachte Verf. Folgendes in Erfahrung: Das deutlich alkalische Exkret reagiert mit Thionin nicht auf Mucin, ebenso wenig auf die Trommer'sche Probe und Millon's Reagenz hin auf Zucker, beziehentlich Eiweiß. Dagegen gelang der Nachweis, daß der Schaum im wesentlichen der verdaute Saft der Nährpflanzen ist, durch Begießen der letzteren mit 0,2-proz. Lithiumchloridlösung und spektralanalytische Untersuchung der Ausscheidungen

darauf gesetzter Cikadenlarven. Ferner konnte nachgewiesen werden, daß im Extrakte Ptyalin vorhanden ist, welches den Speicheldrüsen entstammt, nicht etwa im Darmkanal selber erzeugt wurde. Das Fehlen des Zuckers glaubt G. nach der umgekehrten Analogie mit den Blattläusen durch die starke Entwicklung der Malpighi'schen Gefäße bei Cikaden erklären zu dürfen, die eine vollkommene Ausnutzung der aufgenommenen Nährstoffe ermöglichen. Im übrigen enthält die Ausscheidung 99,48 Proz. Wasser, 0,14 Proz. organische und 0,38 Proz. anorganische Substanz. Die biologische Bedeutung des Aftersekretes erblickt G. in dem Schutze gegen Ameisen und wahrscheinlich noch andere Feinde, eine Annahme, die ebenfalls durch Beobachtungen und Versuche gestützt wurde. In phylogenetischer Beziehung möchte er die starke Entwicklung der Tergitwulstpaare in der Larvenzeit für die Ursache des Vermögens der Schaumbildung ansehen; diese zum Schutze des Individuums so nützliche Einrichtung gestattete den damit ausgerüsteten Larvenspecies allmählich auf das Sprungvermögen zu verzichten, welches die keinen Schaum erzeugenden Formen nötig haben. — Die besprochene Arbeit, welche einer ausführlicheren Veröffentlichung über die Anatomie der Cercopiden vorangeht, ist ein Beispiel für die Nützlichkeit der Anwendung biologischer Forschungsweise auf zoologische Untersuchungen; möchte die Zahl ähnlich gewonnener Kenntnisse sich künftighin mehren!

Jacobi (Berlin).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. ARTHUR WÜRZBURG,

Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Boyce, E., Report to the medical officer of health of the investigations and analyses made by the Corporation bacteriologist. (Thompson Yates laborat. rep. Vol. III. 1900. Pt. 1. p. 79—99.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Abel, E., Taschenbuch für den bakteriologischen Praktikanten, enthaltend die wichtigsten technischen Detailvorschriften zur bakteriologischen Laboratoriumsarbeit. 6. Aufl. 12°. VI, 111 p. Würzburg (A. Stuber) 1901. 2 M.

Hippius, A., Ein Apparat zum Pasteurisieren der Milch im Hause. (Dtsche med. Wechschr. 1901. No. 29, 30. p. 481—482, 502—505.)

Lepierre, Ch., Les gluoprotéines comme nouveaux milieux de culture chimiquement définis pour l'étude du microbe. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1901. No. 26. p. 777—778.)

Stewart, C. E., Apparatus for heating cultures to separate spore-bearing microorganisms. (Thompson Yates laborat. rep. Vol. III. 1900. Pt. 1. p. 39—40.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

- Billet, A.**, Sur la présence constante d'un stade grégariniforme dans le cycle évolutif de l'hématozoaire du paludisme. (Compt. rend. de l'Acad. d. scienc. T. CXXXII. 1901. No. 23. p. 1433—1435.)
- Blanchard, E.**, Note sur les ténias noirs. (Arch. de parasitol. T. IV. 1901. No. 2. p. 227—232.)
- Braun, E.**, Nachweis des Glykogens in Hefezellen. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. 1901. No. 27. p. 397—398.)
- Cecconi, G.**, Zoocécidi della Sardegna, raccolti dal Prof. F. Cavara. (Bullett. d. soc. botan. ital. 1901. No. 4. p. 135—143.)
- Cockerell, T. D. A.**, New coccidae from New Mexico. (Canad. entomol. 1901. No. 7. p. 209—210.)
- Contière, Les saprolegniées, parasites des poissons.** (Extr. du Bullet. de la soc. centr. d'aquicult. et de pêche.) 8°. 20 p. Clermont, Oise (Impr. Daix frères) 1900.
- Ehlers, E.**, Die Anneliden der Sammlung Plate. (Fauna chilens. Bd. II. 1901. Heft 2. p. 251—272.)
- Enderlein, G.**, Zur Kenntnis der Nycteribiiden. (Arch. f. Naturgesch. Jahrg. LXXVII. 1901. Bd. I. Heft 2. p. 175—178.)
- Gineste, Sur les affinités zoologiques des genres Pompholyxia (Fabre-Domergue) et Kunstleria (Delage) parasites de la cavité générale des Géphyriens.** (Proc.-verb. de la soc. linnéenne Bordeaux. 1901. T. LVI. p. LXXV—LXXXI.)
- Gayot, J.**, Contribution à l'étude des larves de Gastrophiles (Oestrides), parasites de l'estomac du cheval. (Arch. de parasitol. T. IV. 1901. No. 2. p. 169—221.)
- Hedin, S. G. u. Rowland, S.**, Untersuchungen über das Vorkommen von proteolytischen Enzymen im Tierkörper. (Hoppe-Seyler's Ztschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXXII. 1901. Heft 6. p. 531—540.)
- Herr, Ein Beitrag zur Verbreitung der säurefesten Bacillen.** (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XXXVIII. 1901. Heft 1. p. 201—204.)
- Hinds, W. E.**, Notes on the life-history of *Alsophila pomataria* Peck. (Fall Canker-worm.) (Canad. entomol. 1901. No. 7. p. 185—191.)
- Isler, E.**, Die Nemertinen der Sammlung Plate. (Fauna chilens. Bd. II. 1901. Heft 2. p. 273—280.)
- Kastle, J. E.**, On the vital activity of the enzymes. (Science. 1901. N. S. Vol. XIII. No. 333. p. 765—771.)
- King, G. B.**, The coccidae of British North America. (Canad. entomol. 1901. No. 6, 7. p. 179—180, 193—200.)
- Laveran, A. et Mesnil, F.**, Sur la morphologie et la systématique des Flagellés à membrane ondulante (genres *Trypanosoma* Gruby et *Trichomonas* Donné). (Compt. rend. de l'Acad. d. scienc. T. CXXXIII. 1901. No. 3. p. 131—137.)
- Malre, E.**, Les variations de la baside et la phylogénèse des Autobasidiomycètes. (Extr. du Bullet. mens. d. séanc. de la Soc. d. scienc. de Nancy. 1901.) 8°. 7 p.
- Meissner, E.**, Zur Morphologie und Physiologie der Kahlhufen und der kahlhautbildenden Saccharomyceten. (Landwirtsch. Jahrb. Bd. XXX. 1901. Heft 4. p. 497—582.)
- Meyer, A.**, Ueber Chlamydo-sporen und über sich mit Jod blau färbende Zell-membranen bei den Bakterien. (Ber. d. dtsch. botan. Gesellsch. 1901. Heft 6. p. 428—432.)
- Plate, L. H.**, Ueber einen einzelligen Zellparasiten (*Chitonicium simplex*) aus der Mantelhöhle von Chitonen. (Fauna chilens. 1901. Heft 2. p. 601—606.)
- Polailon, H.**, Contribution à l'histoire naturelle et médicale des moustiques. [Thèse.] Paris 1901.
- Rosenfeld, A.**, Ueber die Involutionsformen der Pestbacillen und einiger pestähnlicher Bakterien auf Kochsalzagar. [Inaug.-Diss.] 8°. 25 p. Königsberg 1901.
- Schmals, J. B.**, Zur Lebensweise der brasilianischen Dasselfliege. (Insektenbörse. 1901. No. 28. p. 220—221.)
- Tassi, Fl.**, Contribuzione alla flora micologica di Viareggio. (Bullett. d. laborat. ed orto botan. Siena. Vol. III. 1900. Fasc. 3/4. p. 133—138.)
- Webster, F. M.**, Notes on two longicorn beetles affecting growing nursery stock. (31. ann. rep. of the entomol. soc. of Ontario 1900. Toronto 1901. p. 81—84.)
- Welsh, D. A.**, Bacteriology — „acid-fast“ bacilli. (Veterin. Journ. 1901. June. p. 334—339.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.**Luft und Wasser.**

- Boyce, R.**, Note upon the two species of „fungus“ commonly found in sewage contaminated water. (Thompson Yates laborat. rep. Vol. III. 1900. Pt. 1. p. 71—73.)
- Causse, H.**, Sur une réaction caractéristique des eaux pures. (Compt. rend. de l'Acad. d. scienc. T. CXXIII. 1901. No. 1. p. 71—74.)
- Lauterborn, R.**, Beiträge zur Mikrofauna und -flora der Mosel. Mit besonderer Berücksichtigung der Abwasserorganismen. (Ztschr. f. Fischerei. Bd. IX. 1901. Heft 1/2. p. 1—25.)
- Ramello, C.**, L'igiene delle acque potabili in rapporto alla legislazione sanitaria. (Riv. d'igiene e san. pubbl. 1901. No. 12, 13. p. 417—426, 460—468.)

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

- Dardeau, R.**, Contribution à l'étude de la désinfection du linge. [Thèse.] Paris 1901.
- Hope, E. W.**, Preservatives and colouring matters in foods. (Thompson Yates laborat. rep. Vol. III. 1900. Pt. 1. p. 75—78.)

Fleisch.

- Murphy, S. F.**, What administrative measures are necessary for preventing the sale to the public of tuberculous meat? (Lancet. 1901. Vol. II. No. 5. p. 271—274.)

Milch, Molkerei.

- Lloyd, J. S.**, The veterinary work done under the milk clauses in Manchester and the difficulties met with. (Lancet. 1901. Vol. II. No. 5. p. 274—277.)
- Vioth**, Pasteurisieren der Milch und Käseerei. (Landwirtschaftl. Ztg. f. Westfalen u. Lippe. 1901. No. 27. p. 297—299.)

Wein, Weinbereitung.

- Kayser, E.**, Le phosphatage en vinification. (Rev. de viticult. 1901. No. 396. p. 61—68.)
- Schellenberg, H.**, Ursachen mancher Mostkrankheiten. (Schweiz. Ztschr. f. Obst- u. Weinbau. 1901. No. 13. p. 209—211.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

- Boyce, R.**, Note upon the action of the Dibbin contact beds constructed by the corporation of Liverpool at West Derby. (Thompson Yates laborat. rep. Vol. III. 1900. Pt. 1. p. 59—70.)
- Grünbaum, A. S.**, Note on the experiments on sewage disposal in Germany. (Thompson Yates laborat. rep. Vol. III. 1900. Pt. 1. p. 109—115.)
- Mallenbach, H.**, Zur Frage der natürlichen Abwasserreinigung. (Gesundheit. 1901. No. 11. p. 132—136.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.**Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.**

- Cavazza, D. e Musio, S.**, Rassegna di patologia vegetale. (Annali e ragguagli dell'uffic. provinc. per l'agricolt. etc. di Bologna 1899/1900. Anno VII/XXIX.)
- Dearnass, J.**, A parasite of the San José scale. (31. ann. rep. of the entomol. soc. of Ontario 1900. Toronto 1901. p. 87—88.)
- Evans, J. D.**, Notes on insects of the year 1900. (31. ann. rep. of the entomol. soc. of Ontario 1900. Toronto 1901. p. 39—41.)
- Felt, E. P.**, Some effects of early spring application of insecticides on fruit-trees. (31. ann. rep. of the entomol. soc. of Ontario 1900. Toronto 1901. p. 95—98.)
- Howard**, Establishment of a new beneficial insect in California. (31. ann. rep. of the entomol. soc. of Ontario 1900. Toronto 1901. p. 93—94.)

- Johnson, W. G.**, Notes upon the destructive green pea louse for 1900. (*Nectarophora destructor*, Johns.) (31. ann. rep. of the entomol. soc. of Ontario 1900. Toronto 1901. p. 99—102.)
- Lecq, H.**, Notice sur les parasites de l'olivier. Pet. 8°. 13 p. et 1 pl. Alger (Impr. Fontana & Cie.) 1901.
- Lockhead, W.**, The present status of the San José scale in Ontario. (31. ann. rep. of the entomol. soc. of Ontario 1900. Toronto 1901. p. 87.)
- Schults, G.**, Gegen den Hederich. (Hannoversche land- u. forstwirtschaftl. Ztg. 1901. No. 19. p. 332—333.)
- Staes, G.**, Houtasch tot bestrijding van de krulziekte van den perzik. (Tijdschr. over plantenziekt. 1901. 1. afl. p. 10—11.)
- , Het roest der chrysanthem. (Ibid. p. 26—32.)
- Trabut, L'**Aspidiotus ou Chrysomphalus Ficus en Algérie. (Rev. de viticult. 1901. No. 387. p. 552—553.)
- v. Tubeuf, C.**, Weitere Mitteilungen über die Schüttekrankheit der Kiefer. (Arb. a. d. Biolog. Abt. f. Land- u. Forstwirtsch. am kaiserl. Gesundh.-A. Bd. II. 1901. Heft 2. p. 356—363.)
- , 1) Weitere Einrichtungen auf dem Versuchsfelde der Biologischen Abteilung in Dahlem. 2) Wiederholung der Infektion mit *Aecidium strobilinum* auf *Prunus Padus*. 3) Mykorrhiza an *Pinus Pinaster*. 4) Anwendbarkeit von Kupfermitteln gegen Pflanzenkrankheiten. 5) Infektionen mit *Aecidium elatinum*, dem Pilze des Tannenhexenbesens. (Ibid. p. 364—372.)

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

- Webster, F. M.**, Results of some applications of crude petroleum to orchard trees. (31. ann. rep. of the entomol. soc. of Ontario 1900. Toronto 1901. p. 59—61.)
- Windisch, E.**, Ueber die Einwirkung des Formaldehyds auf die Keimung. (Die landwirtschaftl. Versuchsstationen. Bd. LV. 1901. Heft 4/5. p. 241—252.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

- Conn, H. W. and Esten, W. M.**, The ripening of cream. (Orig.) [Conclusion.], p. 769.
- Marpmann, G.**, Ueber Leben, Natur und Nachweis des Hausschwammes und ähnlicher Pilze auf biologischem und mikroskopisch-mikrochemischem Wege. (Orig.), p. 775.

Zusammenfassende Uebersichten.

- Jacobitz, E.**, Die Assimilation des freien, elementaren Stickstoffes. (Orig.) p. 783.

Originalreferate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen Instituten, Laboratorien etc.

- Will, H.**, Studien über Proteolyse durch Hefen. (Orig.), p. 794.

Referate.

- Brefeld, O.**, Ueber die geschlechtlichen und ungeschlechtlichen Fruchtformen bei den kopulierenden Pilzen, p. 811.
- Buchner, E. u. Rapp, E.**, Alkoholische Gärung ohne Hefezellen, p. 809.
- Gruner, M.**, Biologische Untersuchungen an Schaumcikaden (Gatt. *Aphrophora* Germ. und *Philaenus* Stål), p. 812.

Neue Litteratur, p. 813.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Prof. Dr. J. Behrens in Weinsberg i. W.,
Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Dr. v. Freudenreich in Bern, Privatdocent
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Dr. G. Harris Morris
in London, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädenswil, Dr. Erwin F. Smith in
Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr.,
Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel
und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.
und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VII. Band.

Jena, den 23. November 1901.

No. 23.

Jährlich erscheinen 24 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

*Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die
Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung
der ersten Korrekturabsüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.*

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Ueber die Reifung der Edamer Käse.

[Mitteilungen aus dem bakteriologischen Laboratorium der landwirtschaftlichen Versuchsstation Hoorn in Holland.]

Von **F. W. J. Boekhout** und **J. J. Ott de Vries.**

Mit 1 Tafel.

Vor 2 Jahren veröffentlichten wir in dieser Zeitschrift eine diesbezügliche Publikation. Darin gelangten wir zu den nachstehenden Schlußfolgerungen:

- 1) daß Erhitzen der Milch das Casein dermaßen umändert, daß Reifung ausgeschlossen ist;
- 2) daß, wenn wir auch die Reifungsorganismen in den Milchsäurefermenten suchen müssen, jedenfalls nicht jedes beliebige Milchsäureferment fähig ist, die Reifung hervorzubringen;
- 3) daß die Theorie von Babcock und Russell sich als unrichtig erwiesen hat, sonst hätten die Kontrollkäse reifen müssen;
- 4) daß, wenn auch die Theorie Weigmann's sich als richtig bewähren sollte, dieselbe soweit eingeschränkt werden muß, daß die für die Reifung notwendigen Mikroorganismen nach 14 Tagen noch am Leben sind, denn der für Impfmateriale gebrauchte Käse war 14 Tage alt.

Wir schlossen damals unsere Abhandlung mit dem Satze:

„Später hoffen wir auf diesen Aufsatz zurückzukommen und ihn fortzusetzen; zwar könnten wir noch einige interessante Bemerkungen hinzufügen, aber die diesbezüglichen Versuche sind noch nicht alle zu Ende geführt oder müssen noch angesetzt werden, weshalb es uns wünschenswert scheint, hiermit vorläufig abzuschließen.“

Weil die seitdem angestellten Versuche einigermaßen ein abgerundetes Ganzes bilden, glauben wir unsere damals geschriebenen Beiträge verfolgen zu können.

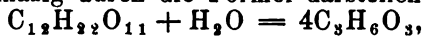
Bezüglich der ersten Schlußfolgerung, daß Erhitzen der Milch das Casein dermaßen umändert, daß Reifung ausgeschlossen ist, können wir zu unserer Freude mitteilen, daß auch Freudenreich und Orla Jensen dahin gelangten. In dem landwirtschaftlichen Jahrbuche der Schweiz. Bd. XIII schreiben sie: „Als ein Hauptergebnis dieser Versuche kann man anführen, daß, während der als Vergleichsobjekt dienende Käse aus nicht pasteurisierter Milch in jeder Beziehung normal war, also auch eine regelmäßige Lochung und einen schönen gelblichen Teig hatte, dieser bei allen aus pasteurisierter Milch hergestellten Käsen weißlich und etwas bröcklig war, mit mangelhafter und unregelmäßiger oder auch selbst ganz ausbleibender Lochung¹⁾. Es scheint also bereits die Pasteurisiertemperatur das Casein so zu verändern, daß mit Bezug auf Konsistenz des Teiges und Lochung ein normaler Hartkäse aus pasteurisierter Milch nicht hergestellt werden kann. Zu einer ähnlichen Schlußfolgerung sind in einer vor kurzem erschienenen Arbeit F. W. J. Boekhout und J. J. Ott de Vries bezüglich des Edamer Käses, auch eines Hartkäses, gelangt.“

Zwar sind in der letzten Zeit verschiedene Abhandlungen in den Fachblättern erschienen, welche Meldung davon machen, daß man Käse aus erhitzter Milch herstellen kann, allein man darf dabei nicht vergessen, daß alle jene Arbeiten sich auf weiche Käsesorten beziehen, und daß eben die Reifung dieser zwei Käseklassen in sehr verschiedener Weise vor sich geht.

1) Es handelt sich hier um Emmenthaler Käse.

Bei bakteriologischen Studien muß man an erster Stelle dem Nährboden Rechnung tragen, welchen der fragliche Bacillus unter natürlichen Umständen wählt. Ist die Reaktion des Nährbodens sauer, so soll man gleichfalls auf einem saueren Medium kultivieren. Arbeitet er unter Sauerstoffausschluß, so muß man auch den Sauerstoff ausschließen. Beachtet man derartige Andeutungen nicht, so kann man zu den eigentümlichsten Ergebnissen gelangen. Deswegen ist es wünschenswert, den chemischen Vorgang während der Reifung thunlichst zu verfolgen.

Wenn die Milch durch die Labeinwirkung geronnen ist und der Bruch weiter verarbeitet wird, erhält man eine frische Käsemasse mit etwa 50 Proz. Wasser. Da sich in der Milch durchschnittlich 5 Proz. Milchzucker befinden, beträgt der Milchzuckergehalt jenes Bruches etwa 2,5 Proz. Dieser Milchzucker zerfällt durch die Thätigkeit der Milchsäurefermente in einer Weise, welche man schablonenmäßig durch die Formel darstellen kann:



so daß daraus entstehen würden $2,5 \times \frac{360}{342} = 2,63$ Proz. Milch-

säure. Der Zeitraum, während dessen der Milchzucker verschwindet, ist abhängig von der Temperatur des Käselagers und von den Milchsäurefermenten; durchschnittlich kann man für Edamer Käse etwa 7 Tage rechnen. Es ist nun gar nicht wahrscheinlich, daß alle Milchsäure in freiem Zustande vorkommt; das Gegenteil würde man viel eher annehmen können. Der Bruch enthält ja hauptsächlich Calciumcaseinat, gebunden an irgend eine Calciumverbindung der Phosphorsäure. Dieses Caseinat zerfällt leicht durch Säureeinwirkung und kann also im Käse fungieren als Mittel zur Neutralisation, in diesem Falle durch Bildung milchsäuren Kalkes und freier Caseine. Weil aber das Casein und also auch der Bruch sauer reagiert, kann man die angeriebene Käsemasse nicht an und für sich citieren zur Bestimmung der gebildeten Milchsäure, sondern muß die Käsemasse extrahieren.

Die gebräuchliche Methode dazu ist Extrahieren mit Aether, welche sehr brauchbar sein würde, wenn sie nicht dem Uebelstande unterläge, daß durch die übliche Trockenmethode beim Verdampfen des Aethers die Milchsäure teilweise verflüchtigt. Die Quantität, welche verschwindet, ist abhängig von der Zeit, während welcher das Extrakt erhitzt wird. Außerdem besteht die Möglichkeit, daß verschiedene sauer reagierende Verbindungen, welche im Käse vorkommen können, wie die höheren Fettsäuren, durch Aether mit-extrahiert werden. Wir umgingen diesen Fehler, indem wir 25 g Käse zusammenrieben mit Wasser und auf 250 ccm brachten. Hierauf filtrierten wir durch ein Chamberland-Filter und titrierten 50 ccm mit $\frac{1}{10}$ normal NaOH und Phenolphthaleine als Indikator. In dieser Weise untersuchten wir zwei Käse, welche an demselben Tage aus einer Milchportion hergestellt worden waren. Diese Untersuchung zeigte, daß während der ganzen Reifungsperiode der Säuregehalt so gut wie konstant blieb, nämlich 7 ccm $\frac{1}{10}$ normal. Dieser

Betrag würde übereinstimmen mit einem Gehalte von $20 \times 7 \times 0,009$ g Milchsäure = 1,26 Proz. Aus der theoretischen Berechnung schlossen wir auf 2,63 Proz., also muß ein großer Teil durch Kalk aus Käsestoff gebunden sein. Unleugbar haften auch dieser Methode Fehler an (z. B. können die sauren Salze und löslichen Eiweißkörper ihren Einfluß auf den Titer ausüben), aber solange es keine bessere giebt, glauben wir dieser Methode den Vorzug vor dem Aetherextraktionsverfahren geben zu müssen.

Was den Sauerstoffgehalt des Käses anbelangt, so haben wir schon in einem früheren Beitrage mitgeteilt, daß der Sauerstoff nach 3 Tagen aus dem Käse verschwunden ist. Lange Zeit bevor die Reifung deutlich auftritt, ist kein Sauerstoff mehr da. Wenn man jetzt annehmen will, daß die Käsureifung ihre Ursache in Mikroorganismen findet, so müssen diese den nachfolgenden Bedingungen entsprechen:

- 1) Ohne Sauerstoff leben zu können, also anaërob sein;
- 2) kein Milchzucker für ihren Lebensunterhalt absolut notwendig sein;
- 3) müssen sie in stark saurer Umgebung leben können.

Die Nährböden würden also, um möglichst mit den natürlichen Verhältnissen übereinzustimmen, ziemlich sauer sein müssen und keinen Milchzucker enthalten. Vergleicht man nun, welche Nährböden bis jetzt verwendet wurden, so findet man Molkengelatine, Milchgelatine, Milchagar, Fleischbouillon und Fleischgelatine, alles Nährböden, welche teilweise durch ihren Säuregehalt und teilweise durch ihren Milchzuckergehalt von dem Natürlichen abweichen.

Der beste Nährboden würde Käse sein, welcher sich im Anfangsstadium der Reife befand. Unglücklicherweise sind aber die praktischen Beschwerden, die mit seinem Gebrauch verbunden sind, so groß, daß wir davon absahen. Den flüssigen Teil aus dem Käse zu pressen und denselben mit 10 Proz. Gelatine zu verwenden, zeigte sich ebensowenig durchführbar, weil es sich als unmöglich herausgestellt hat, Saft aus Käse zu pressen.

Man ist also auf ein möglichst konzentriertes Extrakt aus Käse angewiesen. Die geringste Quantität Wasser, welche dem Käse zugesetzt werden kann, zur Erhaltung eines Extraktes, welches die nötigen Manipulationen, wie Filtrieren u. s. w. gestattet, war $1\frac{1}{2}$ des Käsegewichtes. Die Bouillon erhielten wir auf nachfolgende Weise: Als Material verwandten wir einen Käse im Anfangsstadium der Reife, eben weil alle Bedingungen zur Reifung hier vorhanden sind. Diesen Käse zerschnitten wir in grobe Stücke, welche dann durch die Fleischmühle gemahlen wurden. Von der derartig präparierten Masse wogen wir ein bestimmtes Gewicht ab und setzten das $1\frac{1}{2}$ -fache Gewicht Wasser zu, welches zusammen eine dicke Brühe lieferte, die dann 2 Stunden bei 40° C zum Extrahieren gehalten wurde. Nachher wird auf 50° C erhitzt, indem man fortwährend rührt, damit sich die unlöslichen und halb-löslichen Teile zusammenballen und zu Boden sinken. Jetzt gießt man die überstehende Flüssigkeit ab und läßt diese einige Stunden stehen. An der Oberfläche hebt sich eine Schicht ab, welche haupt-

sächlich aus Fett und Eiweiß besteht. Nach Entfernung dieser Schicht filtriert man und erhält so die Käsebouillon, welche weiter mit 10 Proz. Gelatine zu Käsegelatine verarbeitet wird. Zu diesem Zwecke löst man die Gelatine innerhalb einer halben Stunde im Dampftopf, damit der Niederschlag, welcher entsteht, sich ordentlich absetzt, und klärt die Gelatine durch wiederholtes Filtrieren. Man bekommt auf diese Weise Gelatine, welche zwar einigermaßen opalisiert, aber in so geringem Grade, daß sie bei der Untersuchung nicht die geringste Mühe verursacht.

Wenn man jetzt auf Käsegelatine eine anaërobe oder aërobe Kultur von im Käse enthaltenen Bakterien anlegt, so erscheinen nach etwa 4 Tagen ziemlich große Kolonien, welche alle aus stabförmigen Bakterien bestehen. Diese Bacillen können gleichfalls auf milchzuckerhaltigen Nährböden wachsen, wie Molkengelatine, Milch und Molken, und bilden dann eine Säure, welche nicht flüchtig und ätherlöslich ist, wahrscheinlich also Milchsäure. Die Quantität der produzierten Säure ist nicht für alle Kolonien dieselbe. Einige bilden, in sterile Milch gebracht, so viel Milchsäure, daß die Milch nach 2 oder mehreren Tagen gerinnt, bei anderen dagegen währt es bedeutend länger, bis das Casein ausfällt, während bei einzelnen die Säureproduktion so gering ist, daß die Säuregärung überhaupt nicht eintritt.

Diese stabförmigen Bakterien findet man während der ganzen Dauer der Reifung und sogar in ziemlich altem Käse.

Bei der Verwendung von Molkengelatine dagegen trifft man eine ganz andere Bakterienflora an. Die Kolonien, welche da nach etwa 2 Tagen erscheinen, bestehen nicht aus stabförmigen Bakterien, sondern aus Diplokokken und Streptokokken. Ausnahmsweise kommt auch wohl einmal eine Stäbchenkolonie darunter vor. Auch diese Formen trifft man bei dem Gebrauche von Molkengelatine während des ganzen Reifungsprozesses an. Weil sie aber auf Nährböden ohne Milchzucker nicht wachstumsfähig sind, liegt die Vermutung nahe, daß nach dem Verschwinden des Milchzuckers diese Bakterien in einem latenten Zustande in dem Käse vorkommen.

Daraus geht hervor, daß ihr Einfluß auf die eigentliche Reifung sehr gering sein muß, da diese letztere erst einige Zeit, nachdem der Milchzucker verschwunden ist, deutlich ersichtlich wird. Ihre einzige Aufgabe dürfte darin bestehen, behilflich zu sein, den Milchzucker möglichst bald in Milchsäure überzuführen, damit der Nährboden (also der Käse) in kurzer Zeit ausreichend Säure enthält, zur Verhütung einer fauligen Gärung oder sonstiger ungewünschter Käsestoffumänderung. Das schlechte Auftrocknen des Käses, in welchem Falle sich auf der Rinde eine schleimige Schicht mit vielen Kokken und Hefen bildet, ist eine viel beobachtete Erscheinung und findet ihren Grund in einem mangelhaften Säuregrade der Milch (also an den Milchsäurefermenten), wie die Praktiker behaupten. Daß übrigens bei vollständiger Abwesenheit von Milchsäure die Reifung durchaus mißlingt, kann man leicht kontrollieren. Wenn man allen Milchzucker aus frischem Bruche mit Wasser von 30° C wäscht und hieraus Käse bereitet, nach-

dem man vorher eine Emulsion von 30 g jungem Käse zugesetzt hat, so erhält man ein Produkt, das keine Aehnlichkeit mit Käse besitzt, sondern in stark faulendem Zustande sich befindet. Durch die Abwesenheit von Milchzucker war eine Milchsäuregärung ausgeschlossen, dem Nährboden fehlte seine saure Eigenschaft und infolgedessen konnten die Fäulnisbakterien frei auftreten.

Eigentümlich ist es, daß, trotzdem die stabförmigen Bakterien auf Molkengelatine wachsen können, man sie nicht darauf antrifft, wenn man diesen Nährboden für die Käseuntersuchung benutzt. Dieses muß wahrscheinlich dem Umstande zugeschrieben werden, daß der Unterschied im Wachstum, was die Zeitdauer anbelangt, ziemlich bedeutend ist; für die Kokkenform beträgt die Zeit für die Kolonienentwicklung, wie oben schon gesagt, 2 Tage und für die Stabform 4 Tage. Wenn also die Kokken schon zur Kolonienbildung fortgeschritten sind, müssen die Stäbchenkolonien noch entstehen. Es ist also sehr wohl möglich, daß die Kokkenkolonien durch ihre Sekretionen, welche nicht, wie im Käse, neutralisiert werden können und durch das Erschöpfen des Nährbodens die stabförmigen Bakterien verhindern, sich zu Kolonien zu entwickeln. Am Schlusse dieser Abhandlung kommen wir auf diese beiden Hauptformen zurück.

In schroffem Gegensatze zu der bisherigen Anschauung, daß Bakterien die Ursache der Käsereifung bilden, steht die Theorie Babcock's und Russell's, nach welcher einem bestimmten Ferment in der Milch, Galaktase, der Hauptanteil an der Reifung zukäme, und zwar infolge seiner caseinlösenden Eigenschaft. Die beiden Forscher zeigten die Anwesenheit des Fermentes, indem sie der Milch Antiseptica zusetzten, welche aber nicht die Enzyme töten, wie Aether, Benzol u. a., und beobachteten alsdann eine Steigerung des löslichen Stickstoffgehaltes der Milch. Sie konstatierten die Zunahme in folgender Weise¹⁾: „The milks were first acidulated with acetic acid and heated to boiling to precipitate the albumen and casein.“

Ob aber diese Methode so ohne weiteres Anwendung finden darf, möchten wir in Zweifel ziehen, wenn man überlegt, daß die geringste chemische oder physikalische Einwirkung eine Aenderung in der Zusammensetzung der Eiweißkörper hervorruft (z. B. die Gerinnung des Albumins durch Erhitzung auf 72—78° C).

Die Beschreibung der Gewinnung und der Anwendung des Fermentes ist weiter nicht sehr deutlich. Sie erhielten dasselbe nach ihrer ersten Abhandlung: „By the methods usually employed in isolating enzymes we have succeeded in obtaining from fresh centrifuge slime kept continuously in contact with chemical desinfectants, various extracts that possess proteolytic properties in a marked degree.“ Nun gehört aber Centrifugenschlamm zu den Körpern, welche wohl am meisten mit Bakterien infiziert sind. Man trifft darin eine Unmenge Sorten an, unter anderem auch sehr viele Gelatine verflüssigende Bakterien. Diese bilden ein

1) Centralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. III. p. 615.

Enzym, welches gleichfalls Casein angreift. Orla Jensen, welcher ebenfalls über dieses Thema geschrieben hat, sagt diesbezüglich auf p. 22¹⁾: „Babcock und Russell geben freilich höhere Zahlen für die von Galaktase gebildeten Mengen LN (Stickstoff der Zersetzungsprodukte in Milch) und AN (Stickstoff der Ammoniaksalze) an, aber sie haben auch Galaktase in Form eines Auszuges des sehr bakterienreichen Centrifugenschlammes verwendet, weshalb eine Mitwirkung von Bakterienenzymen nicht ausgeschlossen ist, von deren Bedeutung für die Bildung von LN und AN vorliegende Arbeit viele Beispiele giebt.“ Auch über die Methode der Analyse giebt Jensen ein wenig günstiges Urteil, auf p. 36 seiner Abhandlung liest man z. B.: „Von vornherein ist es indessen einleuchtend, daß ein Käseextrakt, bei Kochtemperatur hergestellt, nicht dazu dienen kann, die Menge der löslichen Proteinstoffe im betreffenden Käse im natürlichen Zustande zu bestimmen. Das Bild des Reifungsgrades wird noch weniger treu, wenn man vor dem Erwärmen Säure zusetzt. Durch dieses in Amerika gebräuchliche Verfahren erhält man Extrakte, die viel leichter klar zu filtrieren sind, aber es kann dasselbe unter Umständen zu ganz falschen Schlüssen führen, so z. B. fände man, daß in einem Backsteinkäse nicht mehr LN (löslicher Stickstoff) in der Speckschicht, als in dem inneren weißen Kerne enthalten ist und daß ein gereifter Backsteinkäse weniger LN als ein gereifter Emmenthaler Käse aufweist.“

Wenn man nicht das umständliche und auch nicht sehr zuverlässige Filtrieren durch die Chamberland'sche Kerze verwenden will, ist man für Milchuntersuchungen freilich gezwungen, sich des Säureverfahrens zu bedienen, aber für Käse, deren Extrakte sich gut durch Papier filtrieren lassen, ist es zu verwerfen.“

In ihrer zweiten Publikation in Bd. VI. 2. Abt. dieser Zeitschrift fehlt gleichfalls eine deutliche Beschreibung der Anwendung des Enzymes; sie schreiben dort: „Die Extrakte wurden bei diesen Experimenten aus frisch bereitetem Separatorschlamm erhalten, der so aufbewahrt worden war, daß keine Bakterienwirkung stattfinden konnte. Bis jetzt sind wir nicht imstande gewesen, Galaktase in reinem Zustande zu isolieren, da die durch die gewöhnlichen Isolierungsmethoden erhaltenen Präparate weniger wirksam waren, als die ursprünglichen Lösungen.“ Babcock und Russell lassen diesen Centrifugenschlamm bei verschiedener Temperatur einwirken auf gekochte Milch und als Kontrollversuch wird gekochte Milch ohne Extraktzusatz genommen. Sie geben dann nachfolgende Tabelle (p. 824) und lassen folgen: „Während die digestive Thätigkeit der Galaktase bei Zimmertemperatur in mäßig alkalischen Lösungen stärker ist als in neutralen oder in schwach saueren, ist der Unterschied in der digestiven Kraft weniger bedeutend, wenn sich die Temperatur der Lösung dem Optimum nähert.“ Ed. von Freuden-

1) Studie über die Enzyme im Käse. (Landwirtschaftl. Jahrbuch der Schweiz. 1900.)

Wirkung von Galaktaseextrakten auf Milch von verschiedener Reaktion bei verschiedenen Temperaturen.

Serie	Reaktion	Gebrauchter Indikator	Zunahme in Prozenten des ganzen Stickstoffes in löslicher Form in Milch, die 19 Tage lang bei folgenden Temperaturen nach Cels. gestanden hat					
			14°	21°	28°	37°	42°	52°
Sauer	0,41 % Milchsäure neutral mit Lackmus	Phenolphthaleine	0,9	0,11	0,12	0,22	0,22	0,11
Alkalisch	0,1 % Milchsäure Lackmus schwach alkalisch	Phenolphthaleine	0,12	0,16	0,19	0,23	0,23	—
Kontrolle	gekochte Milch	kein Extrakt	keine Zunahme					

reich¹⁾ hatte diese Versuche wiederholt und kommt auch aus demselben Grunde zu der Schlußfolgerung, daß Galaktase sich in der Milch befindet. Als Beweis führt er in derselben Weise an, daß gekochte Milch mit Aether nicht dieselben Aenderungen aufweist wie ungekochte Milch. Dieser Forscher giebt für den Einfluß der Milchsäure auf die Galaktasewirkung nachfolgende Zahlen:

Versuch 5: Kontrollmilch mit 20 Proz. Aether. Nach 8 Monaten 0,309 Proz. löslicher N. Gleichfalls mit 20 Proz. Aether und 0,1 Proz. Milchsäure. Nach 8 Monaten 0,308 Proz. löslicher N. Gleichfalls mit 20 Proz. Aether und 0,3 Proz. Milchsäure. Nach 8 Monaten 0,177 Proz. N. Gleiche Milch mit 20 Proz. Aether und 0,5 Proz. Milchsäure. Nach 8 Monaten 0,144 Proz. löslicher N.

Währendem also Babcock und Russell angeben, daß der Einfluß bei 37° C so gut wie nihil ist, giebt Freudenreich an, daß bei einem Gehalte von $\frac{1}{2}$ Proz. Milchsäure der lösliche Stickstoffgehalt von 0,309 g auf 0,144 Proz. sinkt. Zwar behaupten Babcock und Russell, daß dieser Einfluß bei der Maximumtemperatur verschwindet, allein dies hat kein Interesse vom Standpunkte der Käseeripraxis, da keine einzige Käsesorte bei 37° C gehalten wird (für die Reifung der Edamerkäse ist z. B. 16° die gewünschte Temperatur). Außerdem muß man beachten, daß, wenn $\frac{1}{2}$ Proz. Milchsäure schon so bedeutenden Einfluß ausübt, die Wirkung der $1\frac{1}{2}$ Proz. Milchsäure, wie sie im Edamerkäse vorkommt, noch viel größer sein muß.

Die zwei wichtigsten Einwendungen, welche unseres Erachtens gegen alle diese Untersuchungen bestehen, sind diese:

1) Es ist nicht bewiesen, daß der Aether nicht chemisch einwirken kann.

2) Der Gebrauch gekochter Milch zum Nachweis für die Abwesenheit der Galaktase ist nicht zulässig.

Um beide Einwände aufzuheben, wurde versucht, Milch zu gewinnen, welche steril war und doch nicht erhitzt; der Aetherzusatz zum Sterilisieren wäre alsdann überflüssig. Da es bis jetzt

1) Landwirtsch. Jahrbuch der Schweiz. Jahrg. XIII. Heft 2 und auch Milchztg. 1900. No. 16.

in der Bakteriologie für Axioma galt, daß die Milch im Euter steril vorkommt, war die einfachste Methode zur Gewinnung steriler, nicht erhitzter Milch: Steril melken. Freilich hörte man in der letzten Zeit Stimmen, welche ein verneinendes Urteil über dieses Axioma aussprachen, aber es blieb kein anderer Weg übrig, einen Versuch in dieser Richtung auszuführen. Wir stellten das Experiment in folgender Weise an:

Das Euter wurde abgewaschen mit 3-proz. Borsäure und Seife, und damit alle anhaftenden Unreinlichkeiten entfernt. Hierauf entfernte der Melker, welcher vorher Hände und Nägel tüchtig mit Seife und Borwasser gereinigt hatte, 4 l Milch, welche Handlung zum Zwecke hatte, die Bakterien aus dem Milchbusen zu entfernen. Alsdann wurde das Euter von neuem mit Seife und Borwasser gewaschen und jetzt die 4 Striche in ein Becherglas gebracht, das nacheinander gefüllt war erstens mit Aether, dann mit 96-proz. Alkohol und endlich mit 5-proz. Formalinlösung; in einem Falle ist nach dem Formalinbad noch 1 promille Sublimatbad angewendet. Nachdem die 4 Zitzen derartig behandelt waren, führten wir in eine sterile Milchkanüle ein, welche mit steriler Vaseline bestrichen wurde; vorher erhielt der Strich noch ein Formalinbad; die anhaftende Flüssigkeit wurde mit einem sterilen Wattepfropfen entfernt und vorsichtshalber wurden noch einige Strahlen Milch ausgemolken. Der Experimentator reinigte vorher ebenfalls Hände und Nägel mit Seife und 5-proz. Formalinlösung. Die Milchkanüle entleerte die Milchdrüse mittels eines Kautschukschlauches in einen Erlenmeyer-Kolben. Dieser letztere war durch einen doppelt durchbohrten Kautschukstopfen geschlossen, welcher mit 2 Glasröhren versehen war; eine derselben wurde umgebogen und an einer Stelle zum leichten Abschmelzen verjüngt, also ein Pasteur'scher Kolben. Das andere Rohr war an der Oberseite eingeeengt und mit dem Kautschukschlauche verbunden. Der ganze Apparat wurde vorher sterilisiert. In derartigen Apparaten fingen wir jedesmal etwa 200 ccm Milch auf, schraubten hierauf den Schlauch mittels eines Quetschbannes zu und schmolzen das zweite Rohr ab. Zwei Versuche haben wir in dieser Weise gemacht mit dem Erfolge, daß Milch, bei 22° C hingesezt, innerhalb einiger Tage verändert war und bei mikroskopischer Betrachtung eine große Menge Bakterien aufwies. Da trotz aller Vorsichtsmaßnahmen eine Infektion nicht ausgeschlossen sein könnte und eine Bakterie genügt, die Milch mit Bakterien zu bevölkern, wurde dieser Versuch in folgender Weise wiederholt: Die Milch wurde jetzt nicht in Quantitäten von 200 ccm aufgefangen, sondern in Kölbchen, welche wir mit etwa 30 ccm füllten. Die Kölbchen bekamen aber nicht jedes für sich eine Milchkanüle mit Schlauchverbindung u. s. w., sondern wir schalteten am Ende des Kautschukschlauches einen gläsernen Apparat zum Abzapfen beliebiger Quantitäten ein, welcher aus einem engen Apparat besteht, um welches ein zweites Rohr geblasen ist, das den Hals des Kölbchens während des Abzapfens umgibt und so gegen Bakterieneinfall schützt. Die sterilen Kölb-

chen waren mit Wattepfropfen versehen, welche wir vor dem Gebrauch abbrannten. Aus den 4 Zitzen einer Kuh füllten wir jedesmal etwa 40 Kölbchen. Kein einziges der 120 Kölbchen (wir operierten in jener Weise 3mal bei verschiedenen Kühen) blieb aber bakterienfrei, so daß damit zur Genüge bewiesen war, daß die Milch im Euter nicht steril vorkommt. Jetzt erübrigt sich noch die Frage, in welchem Grade die Milch mit Bakterien infiziert ist. Kommen die Bakterien nämlich verhältnismäßig wenig vor, sagen wir z. B. eine auf 30 ccm, so wird diese Bakterie, wenn die Milch auf 22° C gehalten wird, sich dermaßen vermehren, daß die Milch chemische Aenderungen erleidet. Untersucht man diese Milch sogleich bakteriologisch durch die Plattenkultur, so wird man, weil die Milchquantität, welche auf der Gelatinemasse zurückbleibt, ziemlich gering ist gegenüber dem zur Untersuchung nötigen Materiale, die Bakterien wahrscheinlich nicht finden und die Milch also für steril erklären. Zur Entscheidung der Frage, ob die Bakterien in verhältnismäßig geringer Zahl vorhanden sind, wurde in derselben Weise gemolken, nur mit dem Unterschiede, daß anstatt Kölbchen Reagenzröhren genommen wurden, welche wir mit höchstens 15 ccm Milch versahen. Die 320 Röhren (bei 2 Kühen 200 und 120 genommen) zeigten sich alle nach Aufbewahren bei 22° C mit Bakterien besetzt. Die Weise, in welcher die Bakterien auf die Milch einwirkten, war sehr verschieden; einzelne gerinnen die Milch nach kürzerer oder längerer Zeit; andere dagegen haben ein Casein lösendes Vermögen. Die Milch sieht aus, als wenn man Wasser zugesetzt hätte, während über den zu Boden gesunkenen Bakterien sich eine fast durchsichtige Schicht befindet. Eigentümlich war es, daß die Bakterienflora des Euters bei verschiedenen Kühen fast dieselbe war. Die Reaktion der mit caseinlösenden Bakterien besetzten Milch blieb amphoter. Diese Erscheinungen treten aber erst auf, nachdem die Milch 14 Tage bei 22° C gestanden hat.

Weil es aber unmöglich ist, sterile Milch direkt aus dem Euter zu erhalten¹⁾, waren wir darauf angewiesen, demselben Weg zu

1) Backhaus schreibt in den Berichten des landwirtschaftlichen Institutes der Universität Königsberg i. Pr. Bd. II. 1898. p. 16: Die frühere Annahme, daß die Milch die Drüse in sterilem Zustande verläßt, hat sich bei neueren Untersuchungen nicht bewährt. Escherich fand schon einen Keimgehalt von 15000 in der Drüse vor; Welenski stellt fest, daß die gewebezestörenden Bakterien tatsächlich in die Milch übergehen können. Jedenfalls erfolgt auch eine Infektion der Milchdrüse von außen durch ungenügende Funktion des Schließmuskels der Zitze. Unsere eigenen Beobachtungen zeigten in vielen Fällen, daß trotz aller Vorsichtsmaßregeln ein steriles oder nur annähernd steriles Produkt sowohl durch Entnahme mit dem Melkröhrchen als durch vorsichtiges Melken aus der Milchdrüse nicht erhalten werden konnte.

Archibald R. Ward giebt die folgenden Ergebnisse seiner Untersuchungen (The invasion of the udder by Bacteria. Bulletin 178. 1900. Jan. Cornell University Agricultural Experiment Station Ithaca N. Y., Dairy Division):

1) The lactiferous ducts of the nineteen udders examined, harbor bacteria throughout their whole extent.

2) Our present knowledge concerning the place at which bacteria first gain access to milk, should be expressed somewhat as follows: Milk when secreted

folgen wie Babcock und Russell, d. h. einen bakterientötenden Zusatz zu verwenden. Zur Eliminierung der Einwirkung möglicher Weise anwesender Bakterienenzyme war es wünschenswert, Milch zu verwenden, welche thunlichst wenig Bakterien enthielt, weshalb wir dazu immer in oben beschriebener Weise die Milch gewannen und in sterilen Flaschen auffingen. Der zugesetzte Aether wurde vorher mit Lauge ausgewaschen, über Chlorcalcium getrocknet und über Natrium destilliert. Am 31. August 1900 wurden 2 l Milch in 2 Flaschen, gezeichnet A und B, aufgefangen. Die Milch in A enthielt 36,5 ccm $\frac{1}{10}$ Normaltotalstickstoff pro 10 ccm, während der lösliche Stickstoffgehalt pro 10 ccm 4,2 ccm $\frac{1}{10}$ normal betrug. Für die Milch in Flasche B waren diese Zahlen 36,7 resp. 5,2 ccm $\frac{1}{10}$ normal. Die Untersuchung auf löslichen Stickstoff geschah hier, wie während den ganzen Untersuchungen, durch Filtration durch Chamberland-Filter, damit alle chemisch einwirkenden Substanzen, wie Essigsäure etc., welche bei anderen Methoden angewendet werden, ausgeschlossen waren. Die Filtrationsmethode kann man aber nicht so ohne weiteres anwenden¹⁾, weil der Filter während der Filtration der ersten 100 ccm, wie wir fanden, den Stickstoff teilweise zurückhält. Berücksichtigt man aber diese Eigentümlichkeit, so erhält man sehr brauchbare Resultate, zumal es sich hier nicht um absolut quantitative Zahlen handelt, sondern um den Nachweis einer Zunahme des löslichen Stickstoffgehaltes. Bis 11. Oktober stand die Flasche B bei 22° C, nachher bei 37° C. 2 Wochen nach dieser Temperaturänderung ändert sich auch die Milch in Flasche B. Das Casein fällt aus und über dem Präcipitat steht eine klare Serumschicht. Die Milch wurde dann untersucht und enthielt 10,8 ccm $\frac{1}{10}$ Normalstickstoff in 10 ccm Filtrat, also eine Zunahme von 5,6 ccm Normalstickstoff. Die Milch in Flasche A, welche fortwährend bei 22° C aufbewahrt worden war, enthielt am 29. Oktober 8 ccm $\frac{1}{10}$ normal löslichen Stickstoff, also eine Zunahme von 3,8 ccm $\frac{1}{10}$ Normalstickstoff, ohne sichtbare Aenderung zu zeigen. Am 7. Dezember wurde die Milch noch einmal untersucht, also 5 $\frac{1}{2}$ Wochen nach der ersten Untersuchung. Der lösliche Stickstoffgehalt war für B 10,0 ccm $\frac{1}{10}$ Normalstickstoff pro 10 ccm und für A 8 ccm. Die Milch A enthielt jetzt einen geringeren Niederschlag. Zunahme war also nicht zu verzeichnen, im Gegenteil ging B einigermaßen zurück. Wir konstatierten also in keinem Falle ein allmähliches Peptonisieren des Käsestoffes, wie Babcock und Russell dies vorstellen, so daß die Erscheinung unseres Erachtens auf einem allmählichen Präcipitieren des Käsestoffes durch Aether beruht.

by the glands of the healthy udder is sterile. It may however immediately become contaminated by bacteria which are normally present in the smaller milk ducts of the udder.

3)
4) The constant contamination of milk from the udder suggests an explanation for the frequent occurrence of certain „dairy bacteria“ in milk.

1) Diesbezüglich vergleiche man unsere Publikation: Beitrag zur Kenntnis der Labgerinnung. (Landw. Versuchsstationen. 1901. Heft 3.)

Die Zeit des Erscheinens dieser Ausfällung würde abhängig sein von der Temperatur, wobei man die Milch aufbewahrt.

Diese Enzymtheorie stützt sich zum großen Teil auf die Beobachtung, daß gekochte Milch (in welcher die „Galaktase“ abgetötet ist) mit Aetherzusatz keine Aenderung zeigt. Dies darf aber nicht als ein Beweisgrund gelten, da ja die Milch beim Kochen sich nachweisbar verändert¹⁾, z. B. nicht gerinnungsfähig wird; weshalb würde dann Milch durch Kochen sich nicht so ändern, daß der Aether keine Ausfällung des Käsestoffes hervorruft?

Orla Jensen betrachtet bei seinen Untersuchungen über Galaktase ihr Vorkommen und ihre Wirkung in dem Käse²⁾. Kurz gesagt, bestehen seine Versuche darin, daß er eine bestimmte Menge Käse mit einem bekannten Volumen Wasser zusammen reibt und dieses Gemenge bei verschiedenen Temperaturen aufbewahrt. Jede Bakterienentwicklung wird ausgeschlossen durch 1‰ Formalin. Nach verschiedener Zeit werden die Proben filtriert und darin eine Zunahme der löslichen Stickstoffverbindungen konstatiert. Weil alle Bakterieneinflüsse ferngehalten sind, muß nach Jensen ein peptonisierendes Ferment hier seinen Einfluß geltend machen. Ebenso wie die erhitzte Milch als Beweis für die Anwesenheit eines derartigen Fermentes dienen muß, benutzt Jensen den erhitzten Käse als Beweisführung; p. 2 heißt es: „Zu Gunsten der Annahme, daß die Vermehrung des löslichen Stickstoffes eine Enzymwirkung ist, spricht der Umstand, daß in einer auf 95° C erwärmten Käsemasse keine Vermehrung des löslichen Stickstoffes stattfindet; die Menge des letzteren bleibt in diesem Falle überhaupt etwas kleiner als nach 15 Stunden in der nicht erwärmten Käsemasse, weil ein Teil der löslichen Eiweißstoffe beim Erwärmen koaguliert wird. Wäre die Vermehrung des löslichen Stickstoffes in nicht erwärmter Käsemasse auf eine bloße Extraktion zurückzuführen, so müßten daher die langsam extrahierbaren Stoffe alle bei Erwärmung koagulierbar sein. Die Zunahme des löslichen Stickstoffes, welche bei 35° C stattfindet, rührt jedoch nicht bloß von koagulierbaren Substanzen her, da die Hauptmenge dieser letzteren mit der Zeit schon bei dieser Temperatur ausgefällt wird; so enthält ein Emmenthalerkäseextrakt, welches 6 Tage bei 35° C gestanden hat, öfters gar keine bei Erwärmung koagulierbaren Substanzen mehr. Die Zunahme des löslichen Stickstoffes eines Käseextraktes bei 35° C muß deshalb jedenfalls zum Teil als eine Enzymwirkung aufgefaßt werden, und es ist auch nicht anzunehmen, daß es bei einer niedrigeren Temperatur sich anders verhalten sollte, da, wie die Tabelle zeigt, bei 35° C die Zunahme des löslichen Stickstoffes gewöhnlich nicht geringer ist, als bei Zimmertemperatur.“

Gegen diese Auffassung können aber einige Einwände erhoben werden:

1) Siehe unsere Abhandlung: Beitrag zur Kenntnis der Labgerinnung (a. a. O.).

2) Studien über die Enzyme im Käse. (Landw. Jahrbuch der Schweiz. 1900.)

1) Daß, solange nicht nachgewiesen ist, daß der Käsestoff an und für sich nicht löslich ist im Wasser, eine Zunahme des löslichen Stickstoffs nicht auf Enzymwirkung hinzuweisen braucht;

2) daß die Voraussetzung, daß Milch, auf 95° C erhitzt, dieselben Eigenschaften besitzen würde wie unerhitzte, nicht so ohne weiteres angenommen werden kann¹⁾.

Die Versuche, welche wir vorgenommen haben bezüglich der Anwesenheit von Galaktase im Käse, bewegen sich in einer anderen Richtung, passen sich unserer Meinung nach aber mehr an die Wirklichkeit an, wo es gilt, die mögliche Wirkung der Galaktase nachzuweisen.

Früher schon teilten wir mit, daß Käse, hergestellt aus nach unserer Methode erhaltener „aseptischer“ Milch, nicht reifen. Dieses Nichtreifen war konstatiert durch Geruch, Geschmack und Geschmeidigkeit der Masse. Orla Jensen bemerkt in einer Note auf p. 26 seiner oben citierten Abhandlung: „Die Käse scheinen jedoch nicht analysiert zu sein, was allein hätte zeigen können, ob das Casein wirklich nicht verändert war; so kann z. B. der Kern eines Backsteinkäses ebensoviel LN (löslichen Stickstoff) wie ein gereifter Emmenthalerkäse enthalten und doch vollständig unreif scheinen.“

Zur Beseitigung dieses Einwandes machten wir einige dieser Käse aus „aseptischer“ Milch und untersuchten dieselben nach 4 bis 6 Wochen auf löslichen Stickstoff. Weil es auch hier einer vergleichenden Prüfung betraf, war es nicht absolut notwendig, eine exakte Methode für die Bestimmung des löslichen Stickstoffes zu gebrauchen, wenn es eine solche gäbe. Es genügte, normalen Käse und Versuchskäse desselben Alters in gleicher Weise zu behandeln und die Resultate zu vergleichen. Die zu diesem Zwecke befolgte Methode war die folgende:

100 g Käse wurden im Mörser mit Wasser möglichst fein gerieben, darauf in einen $\frac{1}{2}$ l-Kolben gebracht und derselbe aufgefüllt bis zum Strich. Unter fortwährendem Schütteln wird eine halbe Stunde digeriert und dann die Masse durch ein Chamberland-Filter filtriert. Nachdem 100 ccm filtriert waren, welche durch Attraktion der Thonwand einen zu niedrigen Stickstoffgehalt zeigen, dienten 10 ccm Filtrat zur Bestimmung des (löslichen) Stickstoffgehaltes nach der Kjeldahl'schen Methode. Die 4 in dieser Weise untersuchten Versuchskäse enthielten pro 10 ccm Filtrat 2,7 ccm $\frac{1}{10}$ Normalstickstoff (dieser Käse war 6 Wochen alt), 2,6, 2,25 und 1,8 ccm $\frac{1}{10}$ Normalstickstoff (in 4 Wochen alten

1) Duclaux in seinem Buche „Le lait“, p. 83 sagt über die in Milch durch Erhitzung entstandene Veränderung: En d'autres termes que le lait bouilli, bien qu'il n'ait pas subi de changements apparents, n'est pas identique à du lait qui n'a pas subi l'ébullition. C'est là un fait qu'a depuis longtemps révélé la différence de goût et de digestibilité des deux laits, mais qui ne trouve, je crois mis pour la première fois en évidence par une réaction in vitro. La transformation subie par la caseïne est d'ailleurs de l'ordre de toutes les actions qu'exerce la chaleur sur les matières albuminoïdes, qu'elle rend plus compactes et plus insolubles de sorte que rien dans les analogies n'empêche d'accepter notre interprétation.

Käsen). Eine derartige Emulsion eines einen Tag alten Käses aus der Praxis gab 1,0 ccm $\frac{1}{10}$ Normalstickstoff, während ein normaler 4 Wochen alter Käse 9,4 ccm $\frac{1}{10}$ Normal-N zeigte.

Zur Vergleichung der gelösten Mengen Stickstoff in den Versuchskäsen und normalen Käsen müßte man den ursprünglich vorhandenen löslichen Stickstoffgehalt, also gleich nach der Bereitung des Käses, abstrahieren von den erhaltenen Zahlen. Für die Versuchskäse finden wir dann 1,7, 1,6, 1,25 und 0,8 ccm $\frac{1}{10}$ Normal-N und in dem normal gereiften Käse 8,4 ccm $\frac{1}{10}$ Normal-N. Wenn jetzt die für die Galaktasehypothese günstigsten Bedingungen angenommen werden, daß in den Versuchskäsen alle Bakterienwirkung auf die Eiweißstoffe ausgeschlossen sein würde, was aber durchaus nicht der Fall ist, so würde der Einfluß der Galaktase sich beschränken auf $\frac{1}{5} - \frac{3}{21}$ der Reifungsthätigkeit.

Wie wir schon hervorhoben, sind derartige Versuchskäse bei weitem nicht bakterienfrei, vielmehr befinden sich darin Bakterien, welche sich in normalem Käse nicht vermehren, weil der normale Käse sauer reagiert infolge der kräftigen Entwicklung der Milchsäurebakterien, welche Milchsäure aus Milchzucker bilden, ein Prozeß, welcher nicht in Käsen aus aseptisch gemolkener Milch vor sich geht, infolge Abwesenheit derartiger Organismen. Andererseits trifft man unter der Bakterienbevölkerung der aseptischen Käse viele Formen an, welche die Eiweißstoffe angreifen und abbauen, so daß das Löslichwerden der letzteren eher auf die Bakterien als auf die Anwesenheit der „Galaktase“ zurückzuführen ist.

Was weiter die Bemerkung Jensen's anbelangt, so glauben wir, daß die Beurteilung des Fortschreitens des Reifungsprozesses durch chemische Analyse sich nicht durch große Zuverlässigkeit auszeichnet, weil eben Eiweißstoffe sehr subtile Körper sind, welche, wie früher schon öfters betont, bei der geringsten Einwirkung durch chemische oder physische Agentien sich verändern. Obendrein haften an den Hilfsmitteln bei dieser Untersuchung Fehler, welche dieselbe fast unbrauchbar machen. Mit diesen Thatsachen vor Augen schlossen wir auf den Reifungsgrad eines Käses oder ließen denselben durch praktische Fachleute konstatieren durch Geruch, Geschmack und Elasticitätsgrad. Die derartig gewonnenen Beurteilungen lauteten einstimmig über aseptischen Käse, nämlich daß sogar nach 3 Monaten keine Spur von Reife da war; der Käse schmeckte noch „wie gesalzener Bruch“.

Neulich kam diesbezüglich ein Bericht aus der Praxis uns zu, welcher vollständig mit unseren Beobachtungen in Einklang steht. Ein renommierter Käsemacher verarbeitete die Milch, welche er unter möglichst durchgeführter Reinlichkeit gewonnen hatte, 2mal täglich zu Edamerkäse ohne jede Beimischung, wie langer oder saurerer Molken. Die Folge davon war, daß die Reifung der Käse immer schlechter und schlechter vor sich ging.

Uebrigens steht die Galaktasetheorie in grellem Gegensatze mit der Praxis der Käseerei. Wenn die Galaktase ein Körper ist,

welcher den Käsestoff leicht umbildet, so steht dies nicht im Einklange mit dem Umstande, daß der Käse bei geringer Abänderung der Bearbeitung gleich fehlschlägt.

Aus diesen Untersuchungen konnten wir nie auf das Bestehen von Galaktase schließen.

Das aseptische Melken.

Die Methode des aseptischen Melkens wurde seit unserer vorigen Abhandlung bedeutend verbessert, was die Apparate anbelangt. Begnügten wir uns bis dahin mit einer gläsernen Flasche mit Trichter, so verwenden wir jetzt einen Milcheimer, dessen Bau durch untenstehende photographische Aufnahme auf $\pm \frac{1}{9}$ der natürlichen Größe veranschaulicht wird. Der Apparat besteht aus 3 Teilen: 1) dem eigentlichen Eimer, 2) dem Rohr, welches Eimer und Trichter verbindet, und 3) dem Trichter; alle aus galvanisiertem Eisenblech. Der Eimer, welcher 10 l Milch fassen kann, trägt ein graduiertes Standglas, welches durch die neben dem Striche angebrachten Ziffern die Zahl der Liter gewonnener Milch anzeigt. Auf dem Eimer befindet sich ein bei geradem Stande horizontal planiertes Täfelchen, auf welches ein Doselibel mit Bajonettverschluß gesetzt werden kann, damit man sieht, ob der Eimer gerade steht. Das Rohr, welches Eimer und Trichter verbindet, hat ein Gefälle von bloß 2 cm, daher die Notwendigkeit des richtigen Eimerstandes, sonst würde die Milch nur langsam durch das Rohr fließen, sogar stagnieren und aus der Verbindungsstelle strömen. Namentlich auf der Wiese, wo der Boden meistens schlecht planiert ist, erweist der Libel ausgezeichnete Dienste. Im Trichter schließt ein durchlöcherter Ring, zur Befestigung eines musselinen Säckchens. Auf der Photographie sieht man eben den umgebogenen Rand des Ringes, welcher das Einsinken in den Trichter verhütet. Das Musselinsäckchen hat den doppelten Zweck: 1) fungiert es als Sieb und hält meistens einige Haare zurück und 2) wird dadurch das Spritzen und Schäumen der Milch verhindert.

Diese Einrichtung befriedigt alle Anforderungen, welche man für den beabsichtigten Zweck daran stellen muß: Es paßt recht gut auch unter die milchreichen Kühe, was die Höhe anbelangt; es ist bequem zu sterilisieren und leicht rein zu halten.

Das Sterilisieren des Eimers geht ganz einfach im Adnet'schen Dampfsterilisator vor sich. Die 3 Stücke werden dazu auseinander genommen und Trichter und Rohr in Papier eingewickelt. Außerdem wird über den Deckel des Eimers ein Stück Papier gebunden und die Oeffnung des kurzen Seitenrohres, welche das Verbindungsrohr aufnimmt, wird mit einem Wappropfen abgeschlossen und gleichfalls mit einer Papierdecke versehen. Danach werden die verschiedenen Teile sterilisiert.

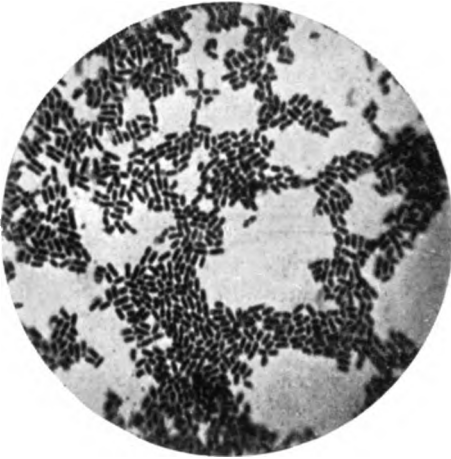
Das Melken geschieht auf folgende Weise: Die Kuh wird an eine geeignete reinliche Stelle gebracht, Hinterbeine und Schwanz mit einem Seil zusammengebunden. Das Euter wird mit grüner

Seife tüchtig gereinigt, an den Haaren festklebende Faecespartikeln mit der Schere entfernt. Dann wird eine Waschung mit einer 3-proz. Borsäurelösung ausgeführt und das Euter mit einem sterilisierten Handtuche abgetrocknet. Der Melker reinigt jetzt Hände und Nägel mittels Seife und Bürste, nachher ebenfalls in 3-proz. Borsäure. Aus jedem Strich melkt er einige Strahlen Milch zur Entfernung der im Zitzenkanal angehäuften Bakterien. Jetzt wird das Euter von neuem mit einer 3-proz. Borsäurelösung gewaschen und mit einem sterilen Handtuch abgetrocknet. Der Melker reinigt abermals Hände und Nägel in derselben Weise wie das erste Mal. Der oben beschriebene Milcheimer wird darauf vorsichtig aus dem Papier geholt und ineinander gesetzt und das Melkgeschäft nimmt seinen Anfang. Vorher reibt der Melker die Zitze ein mit 10-proz. borsäurehaltiger Vaseline, weil sonst die Striche durch die Behandlung zu empfindlich werden und ungewünschte Bewegung durch Schlagen mit den Füßen unvermeidlich wäre. Der Eimer wird von einer zweiten Person festgehalten, welche sich an der anderen Seite der Kuh aufstellt als der Melker, und sorgt, daß der Trichter die richtige Stellung unter dem Euter einnimmt. Füllt eine Kuh den Eimer nicht vollständig, so kann man das Gefäß ruhig stehen lassen, bis eine andere Kuh vorbereitet ist, wenn man nur den Trichter nach unten dreht. Sind 10 l erhalten, so nimmt man die 3 Teile auseinander und schließt die Oeffnung für das Verbindungsrohr mit einem sterilisierten Kautschukpfropfen. Der Transport wird in dieser Weise sehr erleichtert. Die Käsebereitung geschieht in der bekannten Weise, nur mit dem Unterschiede, daß alle gebrauchten Gegenstände vorher sterilisiert werden, die Hände und Arme mit Seife und 3-proz. Borsäurewasser gewaschen werden. Als Käsewanne benutzen wir leicht sterilisierbare, emaillierte Eimer, welche ± 20 l fassen können. Die Käsemesser („harp“ [Harfen] auf Holländisch) sind entsprechend der cylindrischen Form der Käsewanne rund gebogen, damit wir den Bruch ordentlich gegen die Wand pressen können.

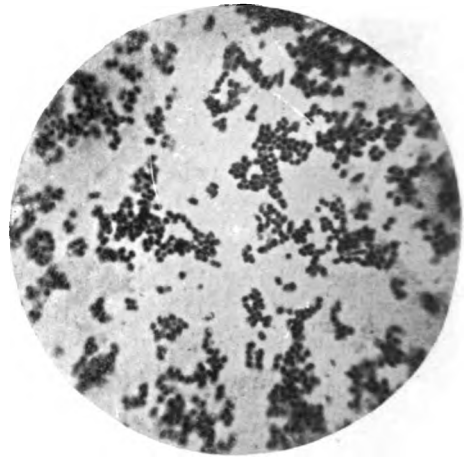
Versuche mit stabförmigen Bakterien.

Mit den oben beschriebenen, auf Käsegelatine erhaltenen, stabförmigen Bakterien sind einige Versuche gemacht worden durch Impfung in aseptischer Milch und Käsebereitung daraus. Diese Versuche geben uns eine berechtigte Hoffnung, daß diese Milchsäurefermente, welche die Eigenschaft besitzen, ohne Milchzucker wachsen zu können, einen Hauptfaktor beim Reifen des Käses bilden. Weil aber die Bestätigung dieser Meinung einer ausgedehnteren Untersuchung bedarf, wie sie bisher gemacht worden ist, werden wir mit der Veröffentlichung der diesbezüglich schon erhaltenen Ergebnisse bis dahin warten.

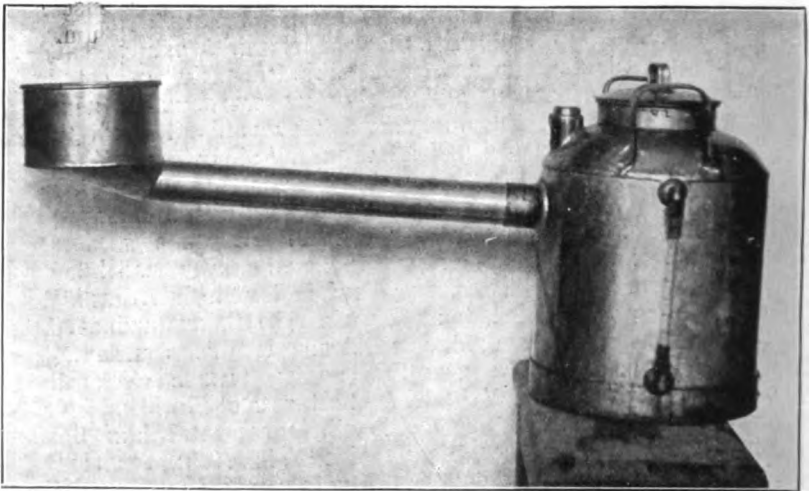
Hoorn, April 1901.



Bakterienflora auf Käsegelatine.



Bakterienflora auf Molkengelatine.



Milcheimer, $\frac{1}{9}$ nat. Größe.

Erklärung der Abbildungen.

Die 2 Photographieen sind von Kulturplatten eines 2 Monate alten Edamerkäses genommen. Die Kulturen waren zu gleicher Zeit angelegt und zwar zur Erhaltung der stabförmigen Bakterien auf Käsegelatine, während die Kokkenform von Molkengelatine stammt. Die Präparate wurden erhalten durch Streichen mit einer Platinöse über die Plattenoberfläche und die so erhaltenen Bakterienmenge auf ein Deckgläschen gebracht. Da das Alter und die Vergrößerung (1000fach) dieselben sind, kann man die Präparate direkt vergleichen.

Zusammenfassende Uebersichten.

Nachdruck verboten.

Die Assimilation des freien, elementaren Stickstoffes.

Zusammenfassende Darstellung nach der einschlägigen Litteratur.

Von Stabsarzt Dr. E. Jacobitz,

kommandiert zum hygienischen Institut der Universität Halle.

(Fortsetzung.)

Ganz abweichend von denen der bisher erwähnten Forscher sind die von Gonnermann (63) bei seinem gleichartigen Versuch erhaltenen Resultate. Er wandte, um sämtliche in den Knöllchen enthaltenen Organismen zu gewinnen, folgendes Verfahren an: Lupinen wurden vorsichtig aus dem Erdrreich gehoben, die Wurzeln gereinigt und sterilisiert (?). Diese letzteren wurden dann mit frisch keimfrei gemachter Watte, auf die eine Schicht ebener Gaze folgte, und mit einem feinen, ausgeglühten Drahtnetz umhüllt. So vorbereitet wurde die Pflanze in einen mit feuchtem sterilen Sand gefüllten Kulturtopf eingesetzt. Nach 8 Tagen wurde dieselbe wiederum vorsichtig herausgezogen. Gonnermann fand jetzt eine große Anzahl der Wurzelknötchen geöffnet, die Watte war braun verfärbt, es „wimmelte“ von Bakterien, die auch den umgebenden Sand stark infiziert hatten. Zur Züchtung der so gewonnenen Mikroorganismen benutzte er verdünnte Nährbrühe, Kartoffelscheiben und eine Lupinengelatine (100,0 g frisch gepreßten Pflanzensaftes aus vorher ziemlich gereinigten, fein zerschnittenen und alsdann aufgekochten Wurzeln und Kraut von Lupinen + 10,0 g Gelatine + 3,0 g Kemmrich's Fleischpepton). Die Reaktion der Nährböden war teils sauer, teils alkalisch, teils auch neutral. Immer fand gute Entwicklung darauf statt. Gonnermann fand so nicht weniger als 10 verschiedene „Knöllchenbakterien“, nämlich 7 von ihm als *Bacilli tuberigeni* und 2 als *Micrococci tuberigeni* bezeichnete, ferner den *Bac. fluorescens non liquefaciens*, niemals aber den Beijerinck'schen *Bac. radicolus*! Die 9 erst aufgeführten zeigten auf den oben näher beschriebenen Nährböden unterschiedliche Eigentümlichkeiten. Fast allen gemeinsam war die Eigenschaft, die Gelatine energisch zu verflüssigen. Um den Beweis zu führen, daß die von ihm isolierten Mikroorganismen thatsächlich die Knöllchenerreger sind, hat

er Impfversuche ausgeführt und mit *Bac. tuborigen.* III—V auch Wurzelanschwellungen erzielt, dabei allerdings den großen Fehler begangen, zur Kontrolle keine ungeimpften Pflanzen mit heranzuziehen. Die Bakteroiden betrachtet G onnermann als eigentümliche, nur in der Leguminose und nicht in künstlichen Kulturen sich vorfindende Gruppierungen der Bakterien, ähnlich wie Kokken sich unter besonderen Verhältnissen zu Perlschnüren, Bacillen sich zu Fäden anordnen können. Da nun aber die eben erwähnten Erscheinungen bei den betreffenden kleinsten Lebewesen auch auf künstlichen Nährmedien beobachtet worden, von den Bakteroiden dies aber nicht bekannt war, so glaubte G onnermann, diese zu derartigen Phänomenen rechnen zu dürfen, wie es z. B. die Kapselbildung der Pneumokokken ist, die analog nicht bei der Züchtung auf unseren Nährböden, sondern nur im Tierkörper nachzuweisen ist.

Erwähnt sei an dieser Stelle noch, daß Mazé (64) bei den an den Leguminosenwurzeln Knötchen hervorbringenden Mikroben einen sehr weitgehenden Pleomorphismus gefunden haben will. In einer reinen Stickstoffatmosphäre, wo zwar ein Wachstum nicht stattfand, das Leben aber lange erhalten blieb, sollen dieselben Kockengestalt annehmen, die bei der Züchtung an der Luft, besonders auf der Kartoffel, dann wieder in die der Stäbchen übergeht. Im Boden sollen sie als unbewegliche, sporentragende Bacillen leben, aus denen die beweglichen, zur Infizierung geeigneten sich entwickeln, ja in älteren künstlichen Kulturen sollen sie auch Oosporaformen bilden können! (?)

Hinzugefügt muß werden, daß die meisten der eben genannten Autoren den Beweis, daß das von ihnen isolierte Mikrobium der Erreger der Wurzelanschwellungen sei, nicht schuldig geblieben sind resp. nicht schuldig geblieben zu sein behaupten, indem es ihnen gelang, auf dem Wege künstlicher Infektion diese Gebilde mit ihren Bacillen an Schmetterlingsblütlern zu erzeugen.

Wenn also die Versuche der Kultivierung der Knöllchenbakterien außerhalb des Bodens und der Pflanze und der Nachweis ihrer spezifischen Wirksamkeit als mehr oder minder gelungen zu betrachten sind, so waren dagegen die Bestrebungen, die in den Knöllchen vorhandenen Bakteroiden ebenfalls auf künstlichen Nährmitteln entstehen zu lassen, nicht von Erfolg gekrönt. Mit Ausnahme von Beijerinck¹⁾ hat keiner der anderen genannten Forscher auch bei sorgfältiger, länger fortgesetzter Beobachtung diese Formen in seinen Kulturen wiederfinden können. Darum sind zwei in letzter Zeit erfolgte Veröffentlichungen bedeutungsvoll und interessant, die eine von Stutzer (65), die zweite von Hiltner (66), die beide die Bakteroiden außerhalb der Papilionaceen auf besonderen Nährböden aus den spezifischen Mikroorganismen gezüchtet haben wollen. Der Erstere gewann durch Zusatz von organischen Säuren, und zwar von Bernstein- oder Citronensäure je 0,5 g oder Weinsäure 0,75 g oder Apfelsäure 1,0 zu

1) Siehe p. 791.

1 l Leitungswasser, das außerdem noch 10 g Glukose, 1 g Asparagin oder an dessen Stelle 1,0 g Pepton, ferner 1,0 g Dikaliumphosphat und 0,5 g Magnesiumsulfat enthielt, Formen, die größer und stärker verzweigt waren, als die in den Knöllchen sich vorfindenden. Außerdem sollen sich die Bakteroiden, wenn auch nicht so üppig, wie in dem eben des näheren besprochenen Nährmedium, doch sehr gut entwickeln, wenn man keine organischen Säuren, wohl aber K_2HPO_4 oder KH_2PO_4 der im übrigen unveränderten oben näher beschriebenen Flüssigkeit zusetzte. — Bemerkt sei, daß schon Mazé (64) das Vorkommen verzweigter Formen in den Wurzelanschwellungen auf Grund einiger Versuche auf die Acidität der Pflanzensäfte zurückführte. Er züchtete nämlich die Bakterien auf Agar mit Zusatz von 1 ‰ Wein- oder Citronensäure, teilweise unter Anwendung von Temperaturen von 35° , und fand dann nur „Involutionsformen“, die aber schon nach einiger Zeit wieder verschwanden und bei der Uebertragung auf alkalische Nährböden und bei Anwendung zusagender Temperaturen sich in Stäbchen verwandelten. — Hiltner (66) benutzte zur willkürlichen Hervorbringung der in Rede stehenden Gebilde außerhalb der Pflanze einmal eine Lösung, die aus einem verdünnten, mit Asparagin und Traubenzucker versetzten Extrakt aus den oberirdischen Organen und den Wurzeln von 6 Wochen alten Erbsenpflanzen hergestellt wird, und sodann noch ein zweites Nährsubstrat, das er durch eine Patentanmeldung Hartleb's, der also als weiterer Forscher in diesem Zusammenhange zu nennen ist, kennen gelernt hatte und die sich folgendermaßen zusammensetzte: Auf 1 l Leitungswasser: 0,559 saures, phosphorsaures Kali, 12,5 g Traubenzucker und 3,9 g Asparagin. Er will nun mit der von ihm angegebenen Nährflüssigkeit sowohl eine üppige Vermehrung der Organismen, als auch eine Umwandlung in Bakteroiden erzielt haben, während die Hartleb'sche Lösung nur die letztere herbeizuführen imstande sein soll. Hiltner kommt zu der Ansicht, daß die anscheinend verzweigten und veränderten Formen lediglich vergrößerte Bakterien sind, bei denen die vielleicht ursprünglich schon vorhandene, aber mit unseren jetztigen Hilfsmitteln nicht sicher zu beobachtende wabige Struktur des Plasmakörpers nur schärfer hervortritt, während Stützer zu dem Schlusse gelangt, daß dieselben höhere Wuchsformen der Knöllchenmikroorganismen darstellen. Beide also weichen auch von der allgemeinen Anschauung, daß wir es hier mit Involutionsformen zu thun hätten, in ihrer Deutung ab.

Eine Beschreibung der bei den einzelnen Papilionaceenarten sich findenden Bakteroiden giebt uns Morck (67), ein Schüler Frank's: Er sieht dieselben als „Eiweißgebilde der Leguminosen an, die von ihnen zuerst erzeugt und dann wieder aufgelöst werden, in denen aber ein Micrococcus-artiger Mikrob eingeschlossen ist“. Da man nun in jedem Knöllchen verschiedene Formen der Bakteroiden nebeneinander beobachten kann, je nachdem ob man ältere oder jüngere Teile desselben untersucht, so ist Morck, um diese einzelnen Stadien auseinanderhalten zu können, so vorgegangen, daß er von der Spitze des Knöllchens beginnend

nach der Basis zu aufeinanderfolgende Schnitte machte. Er untersuchte 65 Arten der Familien Papilionaceae, Caesalpinaceae und Mimosaceae. Aus seiner Schilderung seien kurz die von den bekanntesten aufgeführten Merkmale hier wiedergegeben: 1) *Trifolium pratense*; in jungen Knöllchen gegabelte Formen, in älteren nur einfache, mehr birnförmig verdickte, die später ebenso wie die ersteren kleine kugelige Einschlüsse zeigen. Diese werden frei und die ursprünglichen Umhüllungen verschwinden. Später erscheinen langgestreckte und sehr schwach lichtbrechende Körper, die wohl die Ueberbleibsel und Abkömmlinge der ehemaligen Bakteroiden sind. Auch diese vergehen bald wieder und an ihre Stelle treten neue kleine Stäbchen. 2) *Ornithopus sativa*; gegabelte Formen, die die Länge von $4,5 \mu$ nicht überschreiten. 3) *Vicia faba*; in den jüngsten Knöllchen Stäbchen von $3-5 \mu$ Länge, sie gabeln sich meist an beiden Enden und die ersten Gabeln gehen wieder in neue über. Alsdann werden die Bakteroiden breiter und zeigen deutliche kugelige Einschlüsse. 4) Bei *Pisum sativum* ganz ähnliches Verhalten wie bei *Vicia*, nur sind die Bakteroiden kleiner und stets nur an einem Ende gegabelt. 5) Bei *Phaseolus multiflorus*, ebenso bei *Acacia* sind von den jüngsten bis zu den ältesten Teilen des Bakteroidengewebes nur Stäbchen zu finden. Die jüngeren Zellen unterscheiden sich von den älteren nur durch die Anzahl derselben, die in letzteren in außerordentlich großer Menge vorhanden sind. 6) Bei *Lupinus*, $2-3 \mu$ groß, wachsen sie $6-7 \mu$, dann tritt Rückbildung ein. Sie zeigen gegabelte (doch fehlt diese bei einigen Arten) und ungegabelte Formen. Allmählich werden sie schwächer, lichtbrechend, mehr kugelig gestaltet und enthalten in diesem Stadium eine große Menge von meist größeren „Oeltröpfchen“.

Nachdem man es, wie wir gesehen, gelernt hatte, die Bakterien der Schmetterlingsblütler auf künstlichen Nährsubstraten zu züchten, lag die Frage nicht allzu fern, ob die genannten Mikroorganismen imstande wären, auch in diesen, also außerhalb der Pflanze, den freien Stickstoff der Atmosphäre zu assimilieren. Und so hat Beijerinck (53) zuerst über diesen Gegenstand Versuche angestellt. Er bereitete sich aus $100,0 \text{ g}$ Bohnenkeimlingen, die in einem Liter Wasser gekocht wurden, eine Nährlösung, zu der dann noch $1,5-2,0 \text{ Proz.}$ Rohrzucker als Kohlenstoffquelle, ferner Asparagin, schwefelsaures Ammon, Kali- oder Natronsalpeter als Stickstoffquelle zugefügt wurden. Zur Impfung verwandte er Reinkulturen von Faba-Knöllchenbakterien, ein Teil der Versuchskölbchen erhielt noch einen Zusatz von $\frac{1}{10}-\frac{1}{30} \text{ g}$ Kaliumphosphat und eins derselben wurde mit einem U-Rohr, das mit Schwefelsäure gefüllt war, um die Ammoniakverbindungen der Luft abzuhalten, versehen. Die Dauer des Experiments betrug 2 Monate, die angewandte Temperatur $2-12^\circ$. Der Stickstoffgewinn im Liter stellte sich auf $0,009-0,018 \text{ g}$. Schon aus dieser sehr kurzen Wiedergabe sehen wir, daß eine derartig unvollkommene Versuchsanordnung wohl kaum sichere Schlüsse zuläßt, und so hat auch Beijerinck selbst durch diese seine Untersuchungen die Annahme,

daß die Mikroben der Leguminosen auf künstlichen Nährböden die Atmosphäre als Stickstoffquelle benutzen können, nicht für streng erwiesen, sondern nur für wahrscheinlich erklärt.

Auch Frank (49b) hat gleichartige Versuche angestellt, er hat den „Symbiosepilz“ der Schmetterlingsblütler in stickstofffreien Nährlösungen, die Zusätze von Traubenzucker und Salzen enthielten und denen ammoniakfreie Luft zugeführt wurde, gezüchtet und nachher bei Erhitzung mit Natronkalk deutliche Reaktion auf organischen Stickstoff gefunden, also eine Aufnahme des freien Gases beim Mangel an anderen Quellen für dieses Element festgestellt.

Weiter sei einer Arbeit Berthelot's (68) Erwähnung gethan, in der er berichtet, daß Leguminosenknöllchenbakterien — er brachte zerdrückte Knötchen in Nährlösung — in 4 Monaten 50 Proz. Stickstoff fixierten.

Sodann hat sich Mazé (69) mit dieser Frage beschäftigt. Ausgehend von der Meinung, daß die Wurzelanschwellungen erzeugenden Mikroorganismen auch in unseren Nährmedien nur dann freies Stickgas der Luft zu assimilieren vermögen, wenn ihnen dieselbe oder wenigstens eine ähnliche Verbindung dieses Elements, wie sie in der Pflanze vorhanden ist, zur Verfügung steht, züchtete er die Stäbchen auf einem 15-proz. Agar mit weißem Bohnenaufguß, dem noch 2 Proz. Rohrzucker, 1 Proz. Kochsalz und Spuren von Natriumkarbonat hinzugesetzt waren. Ein Versuch wurde auch nur mit Bohnenbrühe ohne Zusatz von Agar oder Gelatine ausgeführt. Das Nährmedium wurde in flacher Schicht in größeren Kolben ausgebreitet. Diese selbst wurden dann zu mehreren hintereinander durch Gummischlauch in Verbindung gesetzt, der über ein in jedem Gefäß etwa 1 cm oberhalb des Bodens angebrachtes, horizontales Seitenröhrchen gezogen wurde. Durch die so aneinander gereihten Gläser wurde vermittelt eines Aspirators Luft gesogen, die zuvor passieren mußte: 1) ein Rohr mit Kupferspähen, die in Rotglut behalten wurden; um so immer für den notwendigen Sauerstoff zu sorgen; 2) um den Ammoniak fernzuhalten, ein Gefäß, das mit durch Schwefelsäure getränktem Bimsstein gefüllt war und 3) noch einen Wasserbehälter, der dazu dienen sollte, möglichst jede Verdunstung in den Kulturen zu verhindern. Zwischen dem letzten Kölbchen und dem Aspirator war noch eine Flasche mit Schwefelsäure eingefügt, um etwaige vorhandene Ammoniakmengen sicher abzufangen. Die Infizierung, bei der es ja darauf ankam, die Bakterienaufschwemmung möglichst gleichmäßig auf der Oberfläche des Nährbodens zu verteilen, wurde durch den Hals der einzelnen Kolben mit Hilfe eines von dem Autor selbst konstruierten Art Sprays vorgenommen. Die Dauer der Versuche betrug jedesmal etwa 15 Tage. Die Stickstoffbestimmung geschah nach der Kjeldahl-Methode. Der so erzielte Gewinn betrug im günstigsten Falle 47,5 mg bei Verwendung von 175,238 g des vorhin näher beschriebenen Agars.

Andererseits fehlt es in der Litteratur nicht an Berichten über vergebliche derartige Versuche, so ist es z. B. Im mendorff (70) nicht gelungen, in stickstofffreien Nährlösungen die Erbsen- und

Pferdebohnenbakterien zu bemerkenswerter Entwicklung zu bringen oder gar eine Anreicherung mit freiem elementarem Luftstickstoff zu erzielen.

Auch Gonnermann (63) kam bei seinen hierher gehörigen Untersuchungen zu einem negativen Resultat.

Dieser letztgenannte Autor ist es auch, der sich auf Grund wohl kaum einwandfreier Beobachtungen mit großer Entschiedenheit gegen die Arteinheit des *Bac. radiculicola* ausgesprochen hat. In der Litteratur findet sich diese Ansicht im ganzen nur vereinzelt vertreten, so z. B. bei Kirchner (71), der aus der Erfahrung, daß unter einer größeren Anzahl von Schmetterlingsblütlern bei gleichen Bedingungen die japanische Soja-Pflanze stets knöllchenfrei blieb, den Schluß zog, daß das ihr eigentümliche Bakterium eine besondere Art sein müßte. Die Grundlage dieser Folgerung hat sich übrigens schon dadurch als hinfällig herausgestellt, daß man an anderen Orten in Europa, z. B. im Breslauer botanischen Garten, unter denselben Verhältnissen Wurzelanschwellungen bei der Sojabohne festgestellt hat. Die meisten Autoren dagegen haben erhebliche Unterschiede im Aussehen der Bakterien, in ihrem Wachstum und in ihren sonstigen Eigenschaften nicht konstatieren können, auch Beijerinck, der zwar zwei verschiedene Gruppen von Wurzelknötchen erzeugenden Mikroorganismen beschreibt, spricht sich auf Grund gewisser Beobachtungen ganz ausdrücklich dahin aus, daß es sich nur um Varietäten einer bestimmten Bakterien-species handle (13). Er hat dann allerdings in einer späteren Arbeit (72) diesen seinen Ausspruch modifiziert und zugegeben, daß die Unterschiede bei den einzelnen Familien doch größere seien als er zuerst angenommen. Ganz besonders eingehend hat die pflanzenphysiologische Versuchsstation zu Tharand schon vor ca. 10 Jahren diese Frage von der Arteinheit in Bearbeitung genommen und eine Reihe bemerkenswerter Untersuchungen über diesen Gegenstand angestellt und veröffentlicht (73). Man ging im allgemeinen dabei so vor, daß man aus jeder der 6 für die Landwirtschaft wichtigsten Gruppen der Papilionaceen: Phaseoleae, Viciaceae, Trifolieae, Galegaceae, Genisteae und Hedysareae, eine auswählte, ganz junge Keimpflänzchen derselben in dazu hergerichtete Vegetationsgefäße brachte und diese dann zuerst teils mit Erdauszügen von Lupine, Erbse, Bohne u. s. w., teils mit Reinkulturen von *Bac. radiculicola*, die man aus den gleichen Extrakten bzw. Knöllchen¹⁾ gewonnen hatte, impfte. Es wurden nun jedesmal mit jeder der genannten Arten gleichzeitig mehrere Kulturgefäße bepflanzt, die dann alle mit einem anderen der oben erwähnten Impfstoffe infiziert wurden. Als Vegetationscylinder wurden Glasgefäße von 6,5 l Inhalt verwandt. Der Nährboden bestand bei den ersten Versuchen aus einem Gemisch von reinem sterilisierten Quarzsand mit 5 Gewichtsprozenten Torfpulver, dem auf 100 Gewichtsteile je 0,5 chemisch reinen, kohlensuren Kalkes und eine gewisse Menge

1) Landwirtschaftliche Versuchsstationen. Bd. XXXIX. p. 330.

einer Nährsalzlösung zugesetzt wurden. Bei den späteren Untersuchungen wurde das Nährmedium etwas verändert: Jedes Gefäß enthielt 6800 g Quarzsand und 1200 g lufttrockene Gartenerde, gedüngt mit 500 mg KC und 5000 mg $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Die Sterilisierung¹⁾ der zur Verwendung gelangenden Gefäße u. s. w. u. s. w. geschah in einzelnen folgendermaßen: Die Glasgefäße wurden vor dem Gebrauch sorgfältig mit destilliertem Wasser ausgewaschen und mit absolutem Alkohol nachgespült, der Sand in eisernen Kesseln gegläht und die Nährstofflösung dreimal längere Zeit auf nahezu 100°C erhitzt. Ebenso wurde mit der Watte verfahren, die einmal den Boden der Kulturgefäße zu bedecken bestimmt war und sodann auch nach Füllung derselben den oberen Abschluß zum Schutze gegen die Luftinfektion bilden sollte. Die so fertiggestellten Cylinder wurden dann noch vor dem Einsäen und der Impfung innerhalb 4 Tagen dreimal je 3 Stunden im Dampfapparat auf ca. 95°C — 96°C erhitzt. Die Samen wurden $\frac{1}{2}$ Stunde lang in $\frac{1}{10}$ -proz. Sublimatlösung eingelegt und nachher im sterilisierten Wasser eingequellt. Die Ankeimung ließ man in sterilem Sande vor sich gehen. Sobald gesunde Würzelchen entwickelt waren, geschah die Uebertragung der jungen Pflänzchen in die Vegetationsgefäße. Diese selbst wurden, um die Bestrahlung des Bodens und dessen starke Erwärmung im Sonnenschein zu verhindern, mit einer Papphülse umgeben. Für den während des Versuches notwendig werdenden Wassernachguß wurde, um jede nachträgliche Verunreinigung von außen her zu vermeiden, eine besondere Einrichtung²⁾ getroffen. — Die Untersuchungen, die eine Reihe von Jahren in mehrfachen Wiederholungen fortgesetzt wurden, haben übereinstimmend ergeben, daß bei den verschiedenen Leguminosengattungen am sichersten, schnellsten und besten typische Wurzelanschwellungen von den Bakterien der eignen Art erzeugt werden, daß allerdings sich auch Mikroorganismen nahe verwandter Species, z. B. der Erbse und der Wicke, bis zu einem gewissen Grade vertreten können, während bei einander fernerstehenden Gruppen zwar freilich unter Umständen auch Knöllchen erzeugt werden, diese sich jedoch stets als wirkungslos erweisen. Wir haben es mit einer Anpassung des *Bac. radic.* an die betreffende Wirtspflanze zu thun, die auch bestehen bleibt, selbst wenn nach längerer Pause die mit den betreffenden Mikroorganismen infizierte Erde wieder mit der ursprünglichen Pflanzenart besetzt wird. Die die Wurzelknötchen der Schmetterlingsblütler hervorruhenden Mikroorganismen sind also nicht einzelne, gesonderte, scharf voneinander getrennte Familien, sondern nur verschiedene Kulturracen ein und derselben Familie, die draußen auf den Feldern ganz allmählich von den Landwirten gewissermaßen künstlich herangezüchtet worden sind. Zur Erhärtung dieser von N o b b e und H i l t n e r aus den oben des näheren erörterten Versuchen gezogenen Schlüsse haben dieselben den noch fehlenden „zwingenden“ Beweis

1) Landwirtschaftliche Versuchsstationen. Bd. XXXIX. p. 328.

2) Siehe Skizze p. 7 Landwirtschaftliche Versuchsstationen. Bd. XLV.

für die Anpassungsfähigkeit des Knöllchenbacillus an eine andere Gattung der Papilionaceen und damit zugleich für die Art-einheit derselben erbracht: Sie hatten gelegentlich eines Versuches mit Erbsenbakterien an Bohnenwurzeln sehr zahlreiche, allerdings nur kleine Knöllchen erhalten. Die betreffenden Bohnenpflanzen selbst befanden sich, in Übereinstimmung mit den ungeimpften, in sterilem Boden gehaltenen und im Gegensatz zu den mit ihren eigenen Bacillen infizierten, dauernd im Stickstoffhunger. Die bei denselben von den Erbsenmikroorganismen hervorgerufenen Wurzelanschwellungen besaßen also nicht die Fähigkeit, Luftstickstoff zu assimilieren. Aus denselben aber stellten Nobbe und Hiltner wiederum Reinkulturen her, die sich in nichts weder von denen von Pisum, noch von denen von Phaseolus unterschieden. Diese so an Bohnenwurzeln entwickelten Erbsenbakterien, von den beiden Autoren „Kreuzungsbakterien“ genannt, benutzten sie nun weiter zur Infizierung der beiden Ursprungsgewächse in gleicher Weise wie Reinkulturen der diesen beiden eigentümlichen Mikrobien. Sie fanden, daß diese „Kreuzungsbakterien“ ein vollwertiges Impfmateriale darstellten, indem durch dieselben bei den Bohnen nicht nur typische Wurzelanschwellungen hervorgerufen wurden, sondern diese auch fast dieselbe Wirksamkeit entfalteten, wie die mit Hilfe von reinen Phaseolus-Bacillen erzeugten. Bemerkenswert ist hierbei die Erfahrung, daß die so künstlich der verwandten Art angepaßten Knöllchenerreger in dem gleichen Maße der eigenen Wirtspflanze dadurch entfremdet worden waren. Im Anschluß hieran sei die Arbeit von Stutzer, Burri und Maul (731) angeführt, die, ausgehend von der Vermutung, daß das Anpassungsvermögen nicht nur für die betreffenden lebenden Pflanzen Giltigkeit habe, sondern auch bezüglich künstlicher Nährböden mehr oder weniger stark ausgesprochen sei, Knöllchenbakterien auf einem Nährmedium zu kultivieren versuchten, zu dessen Herstellung irgendwelche Teile einer Leguminose nicht Verwendung fanden. Sie züchteten demgemäß Bac. radic. aus den Wurzelanschwellungen von Luzerne auf Gelatine, die mit einem Zusatz von einem Extrakt aus Senfkeimlingen hergestellt wurde, und zur Kontrolle auch auf gleichartig zusammengesetzter Luzernengelatine. Doch war das Wachstum auf dem erstgenannten Nährboden schon in der 3. Tochterkultur so minderwertig, daß die Fortzüchtung aufgegeben wurde. Verwandte man aber Mischungen beider Nährböden mit nach und nach steigenden Mengen von Senfextrakt, so ließ sich so eine allmähliche Anpassung erzielen und auch auf reiner Senfgelatine ungeschwächtes Wachstum erreichen. Wurden die Mikroorganismen nachher wieder auf Luzernengelatine übertragen, so gediehen sie sofort üppig.

Erwähnt sei, daß von Nobbe und Hiltner die aus ihren Versuchen gewonnenen Anschauungen bereits in die Praxis übertragen worden waren: Die Höchster Farbwerke (74) hatten ein Düngemittel, „das Nitragin“, in den Handel gebracht, das sich als Reinkulturen von Bac. radic. auf Gelatine darstellte, und zwar war für jede der verschiedenen landwirtschaftlichen Leguminosen-

gattungen ein besonderes Präparat mit den entsprechenden Mikroorganismen bestimmt. Man hoffte mit Hilfe dieses Mittels den Anbau von Leguminosen auf jungfräulichem Boden oder da zu erleichtern und zu begünstigen, wo man eine Verarmung desselben an spezifischen Mikroben voraussetzen mußte, wo also z. B. viele Jahre hindurch keine Papilionaceen angebaut worden waren. Die erwarteten Erfolge sind nun im allgemeinen nicht eingetreten. Ich will hier auf die Fehler, die wohl teils dem Produkt selbst anhafteten, teils aber auch durch unrichtige Anwendung derselben gemacht worden sind, nicht weiter eingehen, da heute die Fabrikation des Nitragins aufgegeben ist. Hinzufügen will ich aber noch, daß die letzten Veröffentlichungen von Nobbe und Hiltner (73 g. u. i) deutlich erkennen lassen, daß man bemüht ist, die gemachten Versehen und ihre Ursachen zu erkennen und zugleich neue, weitere Aufschlüsse über die Physiologie und Biologie dieser eigentümlichen Bodenbakterien, über ihre Arteinheit, ihre Virulenz, das gegenseitige Verhältnis von Pflanzen und Mikroben u. s. w. u. s. w., zu erlangen. Da es sich aber in den bisher vorliegenden Arbeiten in der Hauptsache nur um Hinweise und Mitteilungen über diese Punkte ohne experimentelle Beweise handelt, so genügt es, sie angedeutet zu haben.

Das Verhältnis zwischen den Leguminosen und den an ihren Wurzeln die typischen Anschwellungen hervorrufenden Bacillen ist noch nicht vollständig aufgeklärt. Es wird gewöhnlich als eine Art Symbiose aufgefaßt, bei der beide Teile Vorteil voneinander haben sollen. Die Mikroorganismen erhalten Asparagin und Kohlehydrate von den Schmetterlingsblütlern und liefern dafür Stickstoff an diese, indem sie denselben selbst zunächst in sich aufnehmen oder auch indirekt, indem sie das Plasma der Wurzelzellen, nach Frank auch das der übrigen Pflanzenorgane, dazu anregen, das elementare Nitrogenium zu assimilieren. Andere, wie z. B. Moeller (75), Nobbe und Hiltner (73) wieder sind der Ansicht, daß es sich nicht um eine Symbiose, sondern um einen Kampf zwischen Pflanze und Mikrobium handle. Dieses letztere vermag mit Hilfe gewisser von ihm abgesonderter Angriffsstoffe in die Wurzeln der ersteren einzudringen, von denen es wiederum durch gewisse Substanzen angelockt werden soll. In der Leguminose wird dann ein großer Teil der eingedrungenen Spaltpilze vernichtet, aber diese selbst erleidet ebenso an ihrem Körper Schädigungen. Der Ausgang des Streites ist also für gewöhnlich nicht ein entschiedener Sieg auf der einen oder der anderen Seite, sondern er ist für die betroffene Pflanze meist günstig, aber auch für die Bakterien nicht ohne Vorteil, indem immer noch ein nicht ganz unerheblicher Prozentsatz derselben nicht nur davorkommt, sondern auch gewissermaßen kräftiger daraus hervorgeht. Weiter besteht aber auch die Anschauung (76), daß wir es bei dem eigentümlichen Verhältnis von Papilionaceen und *Bac. rad.* mit einem Parasitismus, mit einem Schmarotzen der ersteren auf dem letzteren zu thun haben. Die von den Schmetterlingsblütlern besonders mit Hilfe ihres in den Wurzeln enthaltenen, chemotak-

tisch sehr wirksamen Asparagins und anderer Stoffe angelockten Bacillen werden von diesen dann ausgenutzt. Sie bieten denselben günstige Bedingungen, lassen sie den für ihr eigenes Gedeihen so notwendigen Stickstoff sammeln, um sie nachher zu vernichten und das in ihrem Körper aufgespeicherte kostbare Nahrungsmittel sich anzueignen.

Was nun die Frage nach dem eigentlichen Orte anbetrifft, wo die Assimilation dieses Gases vor sich geht, so kommen z. B. Beijerinck, Prazmowski, Hiltner u. A., besonders auch Nobbe (73e) und Kassowitsch (59) auf Grund ihrer wohl als beweiskräftig anzusehenden Arbeiten zu der Ansicht, daß dieselbe in den Wurzelknöllchen selbst vor sich geht, während Andere wieder, wie z. B. Frank und dieser in Verbindung mit Otto, ferner in letzter Zeit Stoklasa (77) den Beweis erbracht zu haben glauben, daß die Aufnahme des Luftstickstoffs auch in den Blättern der Hülsenfrüchtler vor sich gehe. Ja Naudin (78) behauptet, das Protoplasma der Leguminosen selbst besitze die Eigenschaft sowohl freies als auch gebundenes Stickgas zu assimilieren. Endlich fehlt es auch nicht an Autoren (79), die der Meinung sind, daß das elementare Nitrogenium zunächst im Boden durch Vermittelung organischer Substanzen gebunden werde, daß dann durch Mikroorganismen — auch die der Papilionaceen gehören zu diesen — eine kräftige Oxydation dieser Stoffe bewirkt und dabei Stickstoff mit zur Bildung salpetriger- und Salpetersäure verwandt werde.

Die Fragen, wie die Fixierung von statten geht und in welcher Form eigentlich das elementare Stickgas von den Pflanzen aufgenommen werde, sind bisher noch nicht genügend geprüft worden. Die vorhandenen Arbeiten und Mitteilungen, die auf diese Punkte mehr oder weniger ausführlich eingehen, zeigen keine unbedingte Uebereinstimmung. Prazmowski, Nobbe und Hiltner halten es für am wahrscheinlichsten, daß die Leguminosen den in den Bakteroiden in Form von Eiweißsubstanzen niedergelegten freien atmosphärischen Stickstoff durch Auflösen der letzteren sich aneignen und dann für sich verwerten. Nach Moeller (75) trifft dies deshalb nicht zu, weil selbst bei dem größten Knöllchenreichtum die aus allen Bakteroiden einer Pflanze sich ergebende Menge dieses Elements im Vergleich zu der Gesamtzahl desselben in dem betreffenden Gewächs viel zu gering sei, um überhaupt wesentlich mit in Betracht zu kommen. An der Bildung der oben erwähnten, in den Bakteroiden enthaltenen und zur Resorption durch die Pflanze kommenden Eiweißstoffe soll diese selbst beteiligt sein, indem von ihr Stärke und Asparagin, ferner Phosphorsäure, Kali und schwefelsaure Salze mit dazu beigetragen werden. Jedoch bedarf diese Hypothese noch eines vollkräftigen Beweises ebenso, wie die von Winogradsky (80) vertretene, daß sich der Stickstoff zuerst im Plasma der Bacillen mit naszierendem Wasserstoff etwa zu Ammoniak verbinde und sodann mit fortschreitender Oxydation weiter für die Pflanze assimilierbar würde. —

Alle einwandfreien Untersuchungen haben uns gelehrt, daß

die Papilionaceen ohne Bakterien sich genau ebenso verhalten wie die übrigen Pflanzen, d. h. nicht imstande sind, freien atmosphärischen Stickstoff für sich nutzbar zu machen. Daß der *Bac. radicum* in künstlichen Kulturen, wenn ihm die in den Wurzelschwellungen sich vorfindenden oder diesen wenigstens gleichartige Nährstoffe gewährt werden, ohne Symbiose mit den Schmetterlingsblütlern *Nitrogenium* aus der Luft zu sammeln vermag, haben wir bereits gesehen. Darüber aber, ob er auch z. B. im Boden selbst, ohne Vereinigung mit höheren blattgrünen Gewächsen, es zu thun imstande ist, darüber haben wir bei der großen Schwierigkeit, dies durch exakte Versuche klarzulegen, keine sicheren Kenntnisse. Daß aber im Boden unter natürlichen Verhältnissen kleinste Lebewesen vorkommen, die die Fähigkeit besitzen, elementaren Stickstoff in demselben anzureichern, darüber besteht jetzt wohl kein Zweifel mehr. Alpe und Menozzi (81) stellten in der Erde, durch die sie ammoniakfreie Luft leiteten, Zunahme von Stickstoff fest und kamen zu dem Schlusse, daß diese durch Mitwirkung von Bakterien erreicht werde. Sie sind der Meinung, daß auch die Knöllchen hervorbringenden Mikroorganismen zu diesen gehören und in den Leguminosen nur ihre energischste Thätigkeit entfalten. Berthelot (82) hat aus Gartenerde einige Spaltpilze isoliert und von zweien derselben auch nachgewiesen, daß sie unabhängig von höheren Pflanzen *Nitrogenium* zu binden imstande sind. Auch er glaubt, daß dieser Vorgang im Boden nur durch Bakterien bewirkt werde, und zwar nur unter gewissen Bedingungen, nämlich dann, wenn denselben die im Erdreich sonst vorhandene kohlen- und stickstoffhaltige Nahrung anfängt knapp zu werden. Weiter sind Nobbe und Hiltner (83a) der Ueberzeugung, daß auch im Boden selbst eine Stickstoffanreicherung aus der Atmosphäre statthat. Derselbe werde hier zunächst von den Mikrobien aufgespeichert und nach einiger Zeit sodann einer Nitrifikation unterworfen, die ihn so brauchbar und zugänglich mache. In jüngster Zeit hat Kühn (83b) eine höchst interessante, hierher gehörige Beobachtung veröffentlicht: Auf dem Versuchsfelde des landwirtschaftlichen Institutes der Universität Halle a. S. hat eine Parzelle, die während eines Zeitraumes von 2 Jahrzehnten ohne irgendwelche Stickstoffdüngung geblieben war, trotzdem z. B. einen Durchschnittsertrag der 16.—20. Ernte von 19,74 dz Körner pro Hektar geliefert, während das mit anorganischen Stoffen, Superphosphat und Kainit, gedüngte, sonst aber dieselbe Beschaffenheit besitzende Vergleichsfeld für denselben Zeitraum einen Durchschnittsertrag von 19,76 dz Körner pro Hektar einbrachte. Ja es konnte weiterhin festgestellt werden, daß auf dem 20 Jahre hindurch ungedüngten Abschnitt nicht etwa, wie zu erwarten gewesen wäre, allmählich im Laufe der Jahre infolge des Verbrauches des etwa ursprünglich vorhandenen Stickstoffes eine Verminderung der Ernteerträge eingetreten ist, sondern dieselbe sogar die nicht unerhebliche Steigerung um 27,1 Proz. erfuhren. Kühn führt des näheren aus, daß eine Erklärung dieser auffallenden Erscheinung allein darin zu

suchen ist, daß der Boden der ungedüngten Parzelle Mikroorganismen enthält, die befähigt sind, für sich freies Stickgas in gebundener Form überzuführen. Krüger (84) ist es gelungen, aus derselben Ackerkrume einen Spaltpilz zu isolieren, der „nicht unbedeutliche Mengen elementaren Stickstoff zu assimilieren“ vermochte. — Genauere Kenntnisse als über die bisher erwähnten Bakterien haben wir aber durch die mit bewundernswerter Sorgfalt und Emsigkeit ausgeführten Arbeiten Winogradsky's (85) über das von ihm reingezüchtete, gleichfalls zu den Stickstoffbakterien gehörende *Clostridium Pasteurianum* erhalten. Die Isolierung desselben aus Gartenerde gelang ihm nach mehrfachen vergeblichen Versuchen (86) mit Hilfe einer „elektiven“ Methode, d. h. mit Benutzung eines den Lebensbedürfnissen des Mikrobiums angepaßten Nährbodens und mit Hilfe von Untersuchungsanordnungen, die auf Grund eines eingehenden Studiums aller in Betracht kommenden Faktoren getroffen waren. Er wählte ein folgendermaßen zusammengesetztes stickstoffreies Nährmedium: Aqua destillata 1000,0, Kal. phosphat. 1,0, Magnes. sulf. 0,5, Eisensulfat, Mangansulfat, Kochsalz je 0,01—0,02 und 20,0—40,0 Dextrose, dazu etwas vorher sorgfältig gereinigte Kreide. Da nun die eben aufgezählten Ingredienzien für gewöhnlich nicht frei von Nitrogenium enthaltenden Verunreinigungen sind, unterwarf er die Salze einer mehrmaligen Umkrystallisierung, reinigte den Traubenzucker nach dem Verfahren von Soxhlet und destillierte das Wasser noch 2mal unter Zusatz von Soda; jedenfalls benutzte er es nicht eher als bis es nicht mehr die Nessler'sche Reaktion gab. Die so hergestellte Nährlösung impfte Winogradsky mit Erdproben aus dem Garten des Petersburger Institutes. Die Kulturgefäße brachte er unter Glasglocken, die auf geschliffene Platten luftdicht aufgesetzt wurden und durch die Luft hindurch gesaugt wurde. Diese mußte zunächst Bimsstein passieren, der mit Schwefelsäure und dann solchen, der mit Kalilauge getränkt war, damit dieselbe von allen etwa beigemengten Stickstoff enthaltenden Verunreinigungen, Ammoniak, salpetrige Säure u. s. w., gereinigt wurde und nur frei von gebundenem Nitrogenium zu den mit Boden und Nährmedium gefüllten Kolben gelangte. Maßgebend für diese ganze Versuchsanordnung war die Ueberlegung, daß derartige Mikroorganismen unter natürlichen Verhältnissen stickstoffarmen Stellen des Bodens sozusagen angepaßt seien, diese mit Vorliebe aufsuchten und daß sie darum auch aus Gemischen mit anderen, nicht den gleichen Bedingungen unterworfenen Spaltpilzen am besten und leichtesten mit Hilfe derartiger künstlicher Nährlösungen zu isolieren seien. Zunächst entwickelten sich in den mit den Erdproben besetzten Gefäßen Gärungsvorgänge, und zwar handelte es sich in der Hauptsache um Buttersäuregärung. Daneben wurden Essigsäure, Spuren eines höheren Alkohols, sowie minimale Spuren von Milchsäure und weiter Wasserstoff und Kohlensäure gebildet.

(Schluß folgt.)

Referate.

Buchner, Eduard, Ueber die Zymase. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. XVIII. 1901. p. 197—201.)

Buchner wendet sich in der vorliegenden Mitteilung wesentlich gegen A. Macfadyen, G. H. Morris und Sidney Rowland (vergl. dieses Centralblatt. Bd. VI. 1900. p. 25), welche fast ausschließlich mit Oberhefe gearbeitet haben, und veröffentlicht mehrere Reihen neuer Versuche, die mit Berliner Unterhefe S ausgeführt sind.

Ueber den Einfluß der Zuckerkonzentration wollen die englischen Autoren ermittelt haben, daß ein Zusatz von 1 g zu 10 ccm Preßsaft größere Gärwirkung bedingt als Zusatz von 4 g zu derselben Menge Saftes. Die neuen mitgeteilten Versuche beweisen ganz im Gegensatz zu diesen Angaben, daß Preßsaft aus Berliner Unterhefe S bei dem stärkeren Zuckerzusatz die größere Gärwirkung entfaltet, ebenso wie dies schon früher gezeigt wurde.

Die Resultate der englischen Autoren bei Zusatz von Toluol und Thymol zu gezuckertem Hefepreßsaft widersprechen einander sehr; bald ist Toluol, bald Thymol besonders schädlich für die Gärwirkung. Für Preßsaft aus Berliner Unterhefe S entscheiden die mitgeteilten Versuche in eindeutiger Weise, daß 1 Proz. Toluol unschädlich ist, wogegen dem Thymol ein bei kleinen Mengen geringer, bei größeren Mengen deutlich hervortretender, schädigender Einfluß zukommt.

Ueber die sogenannte Selbstgärung des Preßsaftes haben die englischen Autoren in parallelen Versuchen ohne und mit Zuckerzusatz ermittelt, „daß in nahezu jedem Falle durch die Selbstgärung des Preßsaftes mehr Gas erhalten wurde, als wenn die Gärung in Gegenwart von Rohrzucker vor sich ging“. Eine derartig auffallende Erscheinung konnte Verf. niemals weder mit Münchener noch mit Berliner Unterhefe wahrnehmen.

Den Einfluß des Verdünnens halten Macfadyen, Morris und Rowland entscheidend für die Natur des gärkräftigen Agens; es scheint ihnen in dem paralyisierenden Einflusse der Verdünnung auf die Wirksamkeit des Preßsaftes ein schwerwiegender Einwand gegen die Annahme Buchner's zu liegen.

Nach sorgfältiger Nachprüfung haben über 50 derartige Versuche des Verf.'s, bei welchen mit 40- und 10-proz. Zuckerlösung und mit destilliertem Wasser verdünnt wurde, in keiner Weise zu ähnlichen Resultaten geführt. Beim Verdünnen mit einem Volumen 40-proz. Rohrzuckerlösung trat überhaupt keine Abnahme der Gärkraft ein; beim Verdünnen mit einem Volumen Wasser erfolgte eine geringe Abnahme der Kohlendioxydentwicklung (um 20 bis 25 Proz. der Gesamtmenge), höchst wahrscheinlich dadurch bedingt, daß nun etwas größere Mengen Kohlensäure in der vermehrten Flüssigkeit gelöst bleiben; beim Verdünnen mit einem Volumen 10-proz. Zuckerlösung zeigte sich sogar eine deutliche Zunahme der Kohlendioxydentwicklung.

Für den Fall, daß der Preßsaft gute Gärkraft zeigte, haben die englischen Autoren konstatiert, daß der Zerfall des Zuckers auch durch Preßsaft aus Oberhefe ziemlich genau nach der gewöhnlichen Gärungsgleichung verläuft. Zu ähnlichen Resultaten waren Verf. und Rapp schon früher gekommen und werden dieselben nochmals angeführt. Bei der zellenfreien Gärung entsteht also durch wirksamen Preßsaft annähernd gleich viel Alkohol und Kohlensäure; die Summe dieser Gärungsprodukte bleibt nicht sehr weit vom Gewicht des vergorenen Zuckers zurück. Ob die in 2 Versuchen vorhandene Differenz zwischen Zuckergewicht und Summe der Gewichte der Gärprodukte auf die mangelhaften Bestimmungsmethoden zurückzuführen ist oder auf ein Verschwinden von Zucker infolge Bindung desselben an irgendwelche andere Bestandteile des Preßsaftes, wie die englischen Autoren vermuten, muß vorläufig noch unentschieden bleiben. Undenkbar ist die letztere Annahme nicht.

Die Resultate von Macfadyen, Morris und Rowland stehen mehrfach in schroffem Gegensatz zu Buchner's und seiner Mitarbeiter Ermittlungen. Es ist nicht wahrscheinlich, daß diese Widersprüche lediglich daher kommen, weil die Engländer mit Oberhefe, Buchner dagegen mit Unterhefe gearbeitet hat. Auf einige bedenkliche Punkte hat Verf. schon früher hingewiesen. Vielleicht sind die abweichenden Resultate der Engländer dadurch bedingt, daß sie die reichlich ausgetriebene Darstellungsmethode des Hefepreßsaftes verlassen haben.

Die Schlußfolgerungen aus Buchner's und seiner Mitarbeiter Versuchen sind jedenfalls durch die Arbeiten der Engländer mit Oberhefe, die überhaupt, auch nach des Verf.'s Versuchen, weniger Zymase als Unterhefe zu enthalten scheint, und mit Herstellung eines Preßsaftes nach ganz anderem Verfahren nicht widerlegt. Es besteht bislang keine Veranlassung, die Enzymtheorie aufzugeben und lebende Protoplasmasplitter als gärkräftiges Agens im Hefepreßsaft anzunehmen.

H. Will (München).

Ludwig, F., Die Eichenhefe und die Hefenfrage. („Mutter Erde“. Jahrg. II. 1900. No. 51. p. 493—495. No. 52. p. 515—518.)

Eine Zusammenstellung der bisherigen Untersuchungen über die Eichenhefe (*Saccharomyces Ludwigii* Hansen) und eine Darstellung der gegenwärtigen Anschauungen über den Ursprung der Alkoholhefen und ihrer Stellung im Pilzsystem.

Ludwig (Greiz).

Speiser, P., Zur Kenntnis der geographischen Verbreitung der Ascomycetengattung *Helminthophana* Peyritsch. (Ber. D. B. Ges. Bd. XVIII. 1901. Heft 10. p. 498—500.)

Kolenati stellte die Parasiten der Fledermausläuse, die Peyritsch später als Pilze erkannte und als *Helminthophana nycteribiae* beschrieb, zu den Würmern als *Arthrorhynchus*. Nach Peyritsch hat man, wie es scheint, vergeblich

nach dieser merkwürdigen Laboulbeniacee der Nycteribiiden gesucht, und selbst der sonst so glückliche amerikanische Mykolog Roland Thaxter, der über 320 Arten von Laboulbeniaceen beschreiben konnte, hat in Amerika und auch wohl in Paris, London, Oxford, Florenz, Washington, wo er die entomologischen Sammlungen nach Laboulbeniaceen durchsuchte, nichts davon gefunden. Verf., der zum Zwecke einer monographischen Bearbeitung der Fledermausläuse sehr reichhaltiges Material untersuchen konnte, hat dagegen eine weite Verbreitung der Helminthophana nachgewiesen. Kolenati fand sie auf *Penicillidia conspicua* Speiser aus Serbien, Banat, Dalmatien, Kolenati und Peyritsch auf *Nycteribia (Acrocholidia) vexata* Westw. aus Oesterreich und Peyritsch auch auf *Penicillidia Dufourii* (Westw.) aus dem Banat; Verf. auf *Nycteribia (Listropodia) Blasii* Kal. aus Ostpreußen, Königsberg, auf *Cyclopodia macrura* Speiser aus Neupommern (vgl. *Museum für Naturkunde zu Berlin*) und auf *Eucamsipoda Hyrtli* Kol. aus Aegypten (vgl. *Mus. f. Naturk. zu Berlin*) und aus Burma (*Museo Civico di Storia naturale di Genova*). Die Stücke aus Neu-Guinea, die Verf. genauer untersuchte, zeigten keinen Unterschied von der von Peyritsch 1871 gegebenen Abbildung. Ludwig (Greiz).

Palla, E. Zur Kenntnis der *Pilobolus*-Arten. (Oesterr. botan. Zeitschr. 1900. p. 349, 397. Mit Taf. X.)

Ausgedehnte Studien an mehreren Arten der Gattung *Pilobolus* haben Palla dazu geführt, eine kritische Sichtung der bisher bekannten Species vorzunehmen und den Versuch zu machen, den phylogenetischen Aufbau der Gattung näher zu untersuchen.

Im ersten Teile der Arbeit giebt Verf. die Beschreibung einer neuen Art, *P. heterosporus*, die den Anstoß zu der Untersuchung gegeben hatte. Der Pilz wurde bisher nur auf Kuhmist bei Graz gefunden und ließ sich leicht züchten. Die Sporen sind von höchst wechselnder Größe und Form, kugelig bis schmal ellipsoidisch, oft sogar unregelmäßig gestaltet, der Inhalt ist orange-gelb oder orangerot.

Im zweiten Abschnitte werden Kulturversuche bei anderen Arten besprochen. Diese führten Verf. zu dem Ergebnisse, daß die 3 Arten *P. crystallinus*, *P. Kleinii* und *P. sphaerosporus* Bezeichnungen für Artengruppen sind. Die extremen Formen jeder Gruppe sind recht verschieden, aber die zahlreichen Uebergänge lassen ohne weiteres ihre Zusammengehörigkeit zu einer Art erkennen. In der Kultur halten sich die kleinen Merkmale konstant. Um ein Beispiel anzuführen, seien die vom Verf. eingehend studierten Formen von *P. Kleinii* herausgegriffen.

Die Form A ist robuster, hat schmal ellipsoidische Sporen, die *Columella* ist verhältnismäßig breit und in der Mitte oder gegen die Mitte zu meist stark eingeschnürt. Die andere Form B hatte Sporen von derselben Länge, aber breit ellipsoidischer Form, die *Columella* ist schmaler und wenig oder nicht eingeschnürt. Zwischen diesen leicht unterscheidbaren Extremen wurden Formen konsta-

tiert, die in der Kultur nicht variierten. So besaß eine davon die Sporen von A und die Columella von B, eine andere die Sporen von B und die Columella von A. Zwischen diesen 4 Formen gab es wieder Uebergangsglieder, so daß sich eine vollständige Reihe von A bis B konstruieren ließ. Aehnlich ist es auch mit den Arten *P. crystallinus* und *sphaerosporus*.

Im dritten Abschnitte wird dann die Systematik der Gattung besprochen. Zuerst geht Verf. auf die Berechtigung der einzelnen Arten ein. Bisher sind 14 Arten beschrieben, darunter 2 zweifelhafte, die zu streichen sind. Die übrigen Arten sind folgende: *P. crystallinus* (Wigg.) Tode, *P. Kleinii* v. Tiegh., *P. roridus* (Bolt.) Pers., *P. longipes* v. Tiegh., *P. nanus* v. Tiegh., *P. minutus* Speg., *P. oedipus* Mont., *P. exiguus* Bain., *P. intermedius* (Coem.) Karst., *P. argentinus* Speg., *P. roseus* Speg. und *P. lentiger* Corda.

Zu jeder dieser Arten giebt Verf. kritische diagnostische Bemerkungen, über die 3 von Spegazzini aufgestellten argentinschen Arten hält er mit seinem Urteil vorläufig zurück. Auf diesen Abschnitt kann hier nur verwiesen werden, obwohl er sehr wertvolle Bemerkungen über Nomenklatur und Systematik enthält. *P. intermedius* wird als Art kassiert.

Den Kernpunkt der Arbeit bildet die Feststellung der gegenseitigen phylogenetischen Beziehungen der Arten. Es lassen sich 8 sicher bekannte Arten unterscheiden: *P. crystallinus*, *P. Kleinii*, *P. roridus*, *P. longipes*, *P. nanus*, *P. oedipus*, *P. sphaerosporus* und *P. heterosporus*.

Um zu einer Gliederung der Arten zu gelangen, geht Verf. von *Pilaira*, als einem älteren Ausbildungstypus, aus. Am meisten ähneln demselben die Arten *crystallinus*, *roridus* und *nanus*, die durch die farblosen Sporen und die schwach gewölbte Columella sich als Gruppe charakterisieren. Verf. bezeichnet sie als die älteren Formen. Die anderen Arten würden dann den jüngeren Typus der Gattung bilden, der sich durch die hochgewölbte, oft eingeschnürte Columella und die orangefarbenen Sporen auszeichnet.

Die dortgenannten 3 Arten zerfallen in 2 Gruppen; *P. nanus* steht isoliert, die beiden anderen Arten sind verwandt und nähern sich den gelbsporigen Arten. Wir erhalten also 2 Reihen, *P. nanus* als *Xantho-Pilobolus* und die übrigen 7 Arten als *Melano-Pilobolus* bezeichnet. In der letzteren Untergattung sondern sich dann von den älteren Arten *crystallinus* und *roridus*, die Gruppe *P. longipes* und *Kleinii* und die zweite mit *P. heterosporus*, *sphaerosporus* und *oedipus*. Auf einigen Zeichnungen verdeutlicht Verf. die von ihm angenommenen Beziehungen der Arten untereinander.

Nach diesen phylogenetischen Spekulationen, deren Wert immer nur ein sehr problematischer sein kann, folgt dann die systematische Uebersicht der Arten mit Synonymen und Litteraturnachweisen. Den Schluß bildet ein Bestimmungsschlüssel, dessen Wichtigkeit den Abdruck an dieser Stelle rechtfertigt.

- 1 { Sporangienträger einzeln (nur ganz ausnahmsweise zu 2 nebeneinander). Subsporangiale Blase ohne Einschnürung. Cuticularisierte Sporangienwand schwarz (oder schwarzviolett bis schwarzbraun) 2.
 Sporangienträger zu 2—5 in einer Reihe nebeneinander. Subsporangiale Blase unterhalb des Sporangiums mit ringförmiger Einschnürung. Cuticularisierte Sporangienwand gelb. Sporangienträger höchstens 1 mm hoch. Subsporangiale Blase fast kugelig, farblos. Columella flach gewölbt bis uhrglasförmig. Sporen farblos, kugelig, 3,5—4 μ im Durchmesser *P. nanus*.
- 2 { Sporen (ellipsoidisch) einzeln, farblos, 5—10 μ (vereinzelt bis 12 μ) lang, 3—6 μ breit. Sporangienträger meist mit 2 Wurzelblasen. Columella flach gewölbt oder niedrig kegelförmig, ohne Einschnürung 3.
 Sporen (ellipsoidisch oder kugelig, vereinzelt auch ei- oder biskuitförmig) mit orange-gelb bis orangerot gefärbtem Inhalte, die ellipsoidischen 10—25 μ (vereinzelt auch nur 8—10 μ lang, 6—10 μ (seltener darüber) breit, die kugeligen 8—25 μ im Durchmesser. Sporangienträger meist mit nur einer Wurzelblase. Columella kegel- bis cylinderförmig, gewöhnlich höher als ihr größter Breitendurchmesser, häufig eingeschnürt 4.
- 3 { Das Sporangium besitzt nur ein Drittel der Breite der subsporangialen Blase, welche fast so breit als hoch, breit eiförmig bis fast kugelig ist. Sporangienwand durch zarte Kalkoxalatnadeln fein gewimpert. Sporen 6—8 μ lang, 3—4 μ breit *P. roridus*.
 Das Sporangium besitzt ungefähr ein halb der Breite der subsporangialen Blase, welche etwa um ein Drittel höher als breit, eiförmig oder ellipsoidisch ist. Sporangienwand nicht gewimpert, glatt oder fein stachelig-warzig, Sporen 5—12 μ lang, 3—6 μ breit. Artengruppe des *P. crystallinus*.
- 4 { Die Sporen, wenn das Sporangium im Wasser gedrückt wird, nicht leicht heraustretend, meist ziemlich gleichmäßig groß. Meist größere Arten σ .
 Die Sporen im Wasser sich leicht verteilend, meist ungleich groß. Kleinere Arten 6.
- 5 { Sporen fast kugelig, mit dicker, mehr oder minder stark blauschwarz gefärbter Membran. Stielblase auf dem Substrat liegend, 1—2 mm lang. Sporangienträger 2—5 cm hoch *P. longipes*.
 Sporen breit oder schmal ellipsoidisch, mit dünner, farbloser Membran. Stielblase meist im Substrate versteckt, höchstens 1 mm lang. Sporangienträger nur wenige Millimeter hoch. Artengruppe des . . . *P. Kleinii*.
- 6 { Sporen kugelig, nur einzelne ellipsoidisch, ei- oder biskuitförmig 7.
 Sporen ellipsoidisch, nur einzelne vollständig kugelig. Sporenmembran dünn. *P. heterosporus*.
 Sporenmembran dünn, einschichtig. Artengruppe des *P. sphaerosporus*.
 Sporenmembran dick, zweischichtig *P. oedipus*.
- Lindau (Berlin).

Magnus, P., Einige Bemerkungen zu Ernst Jacky's Arbeit über die Kompositen bewohnenden Puccinien vom Typus der *Puccinia Hieracii*. (Hedwigia. 1900. Beibl. p. 147.)

Magnus hatte die Ansicht ausgesprochen, daß der Entwicklungsgang der Uredineen mit zunehmender Meereshöhe sich möglichst zusammendrängt. Deshalb sind auf großen Höhen die Mikro- und Brachypuccinien häufiger als die Auteupuccinien. Eine solche Theorie kann nun nicht allgemein ohne Einschränkungen gelten, denn einige Ausnahmen finden sich wohl immer. Auf einige solcher Fälle hatte Jacky hingewiesen. Magnus führt dagegen eine Reihe von Beobachtungen und Einwendungen an, so daß er z. B. das Beispiel der *Pucc. Aegopodii*, das Jacky anführt, zu seinen Gunsten verwendet.

Zum Schlusse kommt Verf. auf den Wert der Impfversuche

zu sprechen. Was er hier über die Vorbedingungen für den Erfolg einer Impfung und über den Wert von negativen Versuchen sagt, wird wohl allgemeine Billigung finden. Lindau (Berlin).

Kissa, N. W., Kropfmaserbildung bei *Pirus Malus chinensis*. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1900. p. 129. Mit Taf. III, IV.)

Bei den Arten der Gattung *Pinus* sind bisher nur Knollenmasern beobachtet worden. Um so beachtenswerter erscheint deshalb die Beobachtung Kissa's, der bei *Pirus Malus chinensis* echte Kropfmasern konstatieren konnte.

Diese Mißbildung kommt an 2- oder 3-jährigen Zweigen vor und erscheint in Form eines Ringwulstes, auf dem kleine Höcker auftreten. Je älter die Maserbildung wird, um so dicker wird der Wulst, die Oberfläche erscheint rau und die Höcker verlängern sich zu 1—1,5 cm langen Maserspießen, die nach allen Seiten hin gestellt sind. Meistens treten die Bildungen am Ausgangspunkte eines Zweiges auf, oft aber mitten im Internodium.

Die anatomische Untersuchung der Spieße zeigte, daß ihr Mark die Verlängerung eines Markstrahles darstellt, der Holzring setzt sich an die Elemente des letzten Jahrringes an. Der Spieß wächst mit Cambium und Spitzenmeristem und bildet also seine eigene Rinde. Indessen schon nach kurzer Zeit erlischt die meristematische Thätigkeit und der Spieß bleibt auf der erreichten Länge stehen.

Jeder Spieß muß als ein verkümmerter Ast aufgefaßt werden, an dem jede Andeutung von Augenbildung fehlt.

Die beiden der Arbeit beigegebenen Tafeln zeigen Habitusbilder und die anatomischen Einzelheiten auf Quer- und Längsschnitten. Lindau (Berlin).

Solla, In Italien beobachtete Krankheiten. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1900. p. 154.)

Verf. benutzte zu seiner Zusammenstellung mehrere einschlägige Arbeiten von Briosi, Scalia, Berlese u. A.

Im Sommer 1898 trat die *Peronospora* am Weinstock sehr stark auf, namentlich war der Schaden in einzelnen Gegenden sehr groß. Indessen liegt die Hauptschuld an dem verheerenden Auftreten des Pilzes an den Winzern selbst, die bei der Bereitung der Bordeauxbrühe zu sorglos waren. In den Distrikten, wo die Behandlung der Reben eine gute war, zeigte sich auch geringer Schaden. — Gegen die schädigend auftretende Traubenmotte gelangten 2 Mittel zur Anwendung, die aber beide noch nicht den gewünschten Erfolg hatten.

Birnbäume litten durch *Septoria piricola*, Eßkastanien durch *Septoria castaneicola*, Nußbäume durch *Marssonina Juglandis*. Tomaten wurden schwer durch *Phytophthora infestans* und *Septoria Lycopersici* geschädigt.

Gegen die Kartoffelkrankheit wird empfohlen, die unaufgeschnittenen Knollen in 2-proz. Bordeauxmischung zu tauchen und

später das junge Grün noch 4mal in Abständen von etwa 2 Wochen mit derselben Lösung zu bespritzen.

Von den Tierschäden sind besonders die durch die Raupen von *Zeuzera pirina* verursachten Schädigungen von Obstbäumen zu verzeichnen.
Lindau (Berlin).

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Bokorny, Th., Wirkung des Alkohols auf die fermentierende Thätigkeit der Hefe. (Wettend. Zeitschr. f. Spirit.-Ind. 1901. 1. Febr.)

Daß der Alkohol für Enzyme meist schädlich ist, wurde längst beobachtet; über den Grad der Schädlichkeit bei den einzelnen Enzymen sind noch Versuche zu machen. Verf. führte solche an den Hefeenzymen aus.

Preßhefe wurde in Alkohollösungen von verschiedener Stärke bis hinauf zum absoluten Alkohol gebracht, nämlich in 1-, 2-, 5-, 10-, 30-, 50-, 75- und 100-proz. Alkohol; der Alkohol wurde in großer, die Hefe in kleiner Menge angewendet, um nicht eine weitere Verdünnung des Alkohols durch das Wasser der Preßhefe herbeizuführen.

Da in den Proben mit 1—5-proz. Alkohol bald Bakterien sich einstellten, wurden hauptsächlich die stärkeren Lösungen ins Auge gefaßt; in ihnen blieb die Hefe 20 Tage lang liegen; sie starb dabei ab, denn herausgenommene Proben der Hefe wuchsen nicht mehr, als sie in Nährlösung gebracht wurden.

Das Invertin war in keiner der Proben unwirksam geworden, wie angestellte Versuche mit Rohrzuckerlösungen ergaben, die immer invertiert wurden. Sogar absoluter Alkohol machte das Ferment bei 20-tägiger Einwirkung nicht unwirksam.

Anders die Maltase! Die malzzuckerinvertierende Kraft der Hefe verschwindet völlig, wenn man Hefe 20 Tage lang in absoluten oder 75-proz. oder auch nur 50-proz. Alkohol verbringt. Ja sogar 10-proz. Alkohol macht die Hefemaltase binnen wenigen Tagen unwirksam.

Ob die Maltose gespalten wird, kann erkannt werden durch Kochen der zuckerhaltigen Flüssigkeit mit einer schwach essigsauren Lösung von Kupferacetat. Glykose scheidet daraus rotes Kupferoxydul ab, Maltose nicht (Muskulus, Mering).

Was die Zymase betrifft, so finden sich in der Litteratur Angaben, daß Alkohol von 12 Proz. die Gärung, also die fermentierende Thätigkeit der Zymase verhindert. Einige Versuche des Verf.'s ergaben ein ähnliches Resultat. Die Vergärung von Rohrzuckerlösungen trat bei Zusatz von 10—20-proz. Alkohol nicht oder sehr schwach ein. Aber die Zymase war nur vorübergehend unwirksam. Beim Herausnehmen der Hefe und Verbringen in alkoholfreie Gärlösung stellte sich sogleich Gärung ein.

Selbst durch 8-tägige Einwirkung absoluten Alkohols wird die Zymase nicht vernichtet, wohl aber durch 30-tägige.

Unter den Hefeenzymen ist also die Invertase sehr widerstandsfähig gegen Alkohol, die Maltase (Glukase) ungewöhnlich empfindlich, die Zymase mäßig empfindlich. Autorreferat.

Du Roi, Erfahrungen über die Anwendung des Pasteurisierverfahrens zur Bekämpfung von Butterfehlern. (Milchzeitung. Jahrg. XXIX., No. 9.)

Auf Grund zahlreicher Beobachtungen in der Praxis spricht Verf. die Ansicht aus, daß eine Bekämpfung von Butterfehlern, die nicht besonders hartnäckiger Natur sind, mit genügendem Erfolg durch Erhitzen der Milch oder des Rahmes auf 65—68° während einer Zeitdauer von 5 Minuten durchzuführen ist. Nicht immer gehört diese Temperatur beim Auftreten des Wruckengeschmackes, sowie bei dem Fehler der thranig-fischigen Butter, bei denen eine Erhitzung auf etwa 90° notwendig ist. Diesen Erfahrungen nach wird die Vermutung, daß diese beiden Fehler auf besondere Mikroorganismen zurückzuführen sind, noch wahrscheinlicher, besonders auch da der erste dieser Fehler eintreten kann, wenn Wrucken im Stalle nur geschnitten werden, der zweite, wenn zur Streu Waldstreu verwandt wird.

Bei Anwendung dieser hohen Temperaturen muß jedoch beachtet werden, daß eine Abkühlung bis auf etwa 6° folgen muß, da sonst die Butter einen Kochgeschmack annimmt. Appel (Charlottenburg).

Steuder, Alfred, Vertilgung gewisser Ackerunkräuter durch Metallsalze. (Mitteilungen der landwirtschaftl. Institute der kgl. Universität Breslau. Heft III. p. 73—101.)

In Anerkennung der Bedeutung der Unkrautvertilgung hat die Landwirtschaftskammer für die Provinz Schlesien eine Preisaufgabe ausgeschrieben, bei deren Lösung folgende Fragen zu beantworten waren:

- 1) Durch welche Metallsalzlösung werden Ackersenf, Hederich und Ackerdistel am meisten geschädigt?
- 2) Welches ist die zweckmäßigste Konzentration der Lösung für diesen Zweck?
- 3) Welches ist der wichtigste Zeitpunkt der Anwendung der Besprengung?
- 4) Ist es notwendig, die Besprengung zu wiederholen und eventuell wann?
- 5) Welche landwirtschaftlichen Kulturpflanzen werden dadurch angegriffen und in welchem Grade bzw. welche nicht?
- 6) Worin besteht die physiologische Ursache der zerstörenden Wirkung gewisser Metallsalzlösungen auf gewisse Pflanzen?

Die vorliegende Arbeit ist die Lösung dieser Aufgabe. Die Versuche wurden ausgeführt auf dem Versuchsfelde des Institutes für landwirtschaftliche Pflanzenproduktionslehre, woselbst zunächst 18 je 10 qm große Versuchspartellen Ende April, 12 weitere Mitte Juni angelegt wurden; dieselben waren je zur Hälfte mit einem gleichmäßigen Gewichte von Hafer, Gerste und Weizen, sowie Erbsen, Pferdebohnen und Wicken bestellt.

In Anwendung kamen die Chloride des Kupfers, Eisens und Zinks, Kaliumbichromat und Kupfernitrat in je 10-proz. Lösung, ferner die Sulfate des Natriums, Magnesiums, Zinks, Kupfers und Eisens in je 15-proz. Lösung; die meisten dieser Lösungen erwiesen sich zu dem gedachten Zwecke unbrauchbar, entweder deshalb, weil sie ohne genügende Wirkung blieben, oder weil außer dem Unkraute auch die Kulturpflanzen geschädigt wurden. Allein die Sulfate des Zinks, Kupfers und Eisens zeigten eine wünschenswerte Wirkung, so daß unter gleichzeitiger Berücksichtigung des Preises das Ferrosulfat allein Aussicht hat, in die große Praxis Eingang zu finden.

Es fragte sich nun, welche Konzentration des Eisenvitriols am geeignetsten ist und wurden die Versuche ausgeführt mit Lösungen von 5—40 Proz. Das Resultat war, daß unter besonders günstigen Verhältnissen eine 12 $\frac{1}{2}$ -proz. Lösung genügt, und daß schon bei 15 Proz. das zulässige Maximum erreicht ist. Die Anwendung, bei welcher man mindestens 600 l pro Hektar nehmen muß, geschieht am besten, wenn die Unkrautpflanzen noch jung, andererseits aber schon groß genug sind, um eine nicht zu kleine Fläche zu bieten, d. h. dann, wenn die Hederichpflanzen etwa 4—6' Blätter haben. Unter diesen Voraussetzungen genügt in den meisten Fällen eine einmalige Bespritzung.

Die Kulturpflanzen stellt Verf. nach ihrer Widerstandsfähigkeit gegen die Eisenvitriollösung in drei Gruppen zusammen. Zu den widerstandsfähigsten, die in ihrem Ertrage überhaupt nicht beeinträchtigt werden, gehören: Hafer, Weizen, Gerste, Roggen, blaue Lupine, Rotklee, Raps, Mohn und Möhre. Die zweite Gruppe bilden Erbsen, Lein und Serradella; diese erfahren eine Schädigung, welche jedoch nicht so groß ist, daß sie nicht unter gewissen Umständen noch eine Bespritzung zuließe. Unter keinen Umständen dürfen jedoch die Angehörigen der dritten Gruppe gespritzt werden; diese sind: Bohnen, gelbe und weiße Lupinen, Buchweizen, Spargel, Wasserrüben, Turnips, weißer Senf, Kartoffeln und Rüben.

Neben der Eisenvitriollösung wurden noch geprüft der Heufelder Hederichtod (ein Gemisch von $\frac{1}{4}$ Eisenvitriol und $\frac{3}{4}$ dolomitischen Kalk), der seiner unzuverlässigen Wirkung und seines horrenten Preises wegen unbedingt zu verwerfen ist, und eines selbstgemahlten Gemenges von Eisenvitriol und Kalk, das ebenfalls kein günstiges Resultat lieferte.

Die physiologische Ursache der Wirkung gewisser Metallsalzlösungen auf die Pflanzen sucht Verf. zu erklären durch Exosmose. Nach Aufbringen des Eisenvitriols wird das Vegetationswasser der Zellen rascher nach außen gezogen und verdunstet schneller, als es die Pflanze ersetzen kann, daher das rasche Eintrocknen bespritzter Blätter. Das verschiedene Verhalten der einzelnen Pflanzen erklärt sich dabei zwanglos aus der Beschaffenheit der Blattoberfläche, die bei den verschiedenen Pflanzen die auffallenden Tropfen bald haften und sich ausbreiten, bald wirkungslos abrollen läßt.

A p p e l (Charlottenburg).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. ARTHUR WÜRZBURG,
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

- Baarden, Ch. E.**, New freezing microtome for use with carbondioxide-tanks. (Journ. of applied microsc. and laborat. methods. Vol. IV. 1901. No. 6. p. 1320—1323.)
- Baroni, E.**, Sopra un nuovo metodo di conservazione delle piante e degli animali. (Bullett. d. soc. botan. ital. 1901. No. 2/3. p. 56—60.)
- Kisskalt, C.**, Eine Modifikation der Gram'schen Färbung. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXX. 1901. No. 7. p. 281—284.)
- La Verne Powers, J.**, An improved microtome. (Journ. of applied microsc. etc. Vol. IV. 1901. No. 2. p. 1162—1164.)
- Mc Clung, C. E.**, Laboratory photography. Highpower photo-micrography. (Journ. of applied microsc. Vol. IV. 1901. No. 2. p. 1158—1162.)
- Minot, Ch. S.**, Improved automatic microtomes. (Journ. of applied microsc. and laborat. methods. Vol. IV. 1901. No. 6. p. 1317—1320.)
- Park, W. H.**, The use of solid and liquid paraffins on the surface of culture media to insure anaërobic conditions. (Journ. of med. research. Vol. VI. 1901. No. 1. p. 298.)
- Preusse**, Die Anwendung des Formalins bei der Anfertigung anatomischer und bakteriologischer Präparate. (Berl. tierärztl. Wchschr. 1901. No. 35. p. 525—527.)
- Stewart, B.**, Description of photographs of cultures of *B. pestis* in broth showing „stalactite“ formation. (Thompson Yates laborat. rep. Vol. III. 1900. Pt. 1. p. 40.)
- Walmaley, W. H.**, The photo-micrography of tissues with simple apparatus. (Journ. of applied microsc. etc. Vol. IV. 1901. No. 5. p. 1283—1286.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

- Baldwin, E. E. and Levane, P. A.**, The action of proteolytic enzymes on bacterial toxins. (Journ. of med. research. Vol. VI. 1901. No. 1. p. 120—134.)
- Barby, A.**, Die Bostrichiden Centraleuropas. Eine morphologische und biologische Studie der Familie der Borkenkäfer mit Rücksicht auf den Forstschutz. Für Forstwirte, Baumzüchter und Entomologen. Mit 18 nach Photogr. u. Zeichn. des Verf. ausgef. Taf. Fol. VII, 119 p. mit 18 Bl. Erklärgn. Gießen (Emil Roth) 1901. 16 M.
- Brandes, G.**, Die Begattung der Hirudineen. (Abhandl. d. naturforsch. Gesellsch. Halle. Bd. XXII. 1901. p. 375—392.)
- Buchner, H.**, Sind die Alexine einfache oder komplexe Körper? (Berl. klin. Wchschr. 1901. No. 33. p. 854—857.)
- Chamot, E. M.**, Micro-chemical analysis. XII. The analytical reactions of group. II. (Journ. of applied microsc. etc. Vol. IV. 1901. No. 4. p. 1242—1249.)
- Enderlein, G.**, Zur Kenntnis der Flöhe und Sandflöhe. Neue und wenig bekannte Puliciden und Sarkopsylliden. (Zool. Jahrb. Abt. f. System., Geogr. u. Biol. d. Tiere. Bd. XIV. 1901. Heft 6. p. 549—557.)
- Gayon, U. et Dubourg, E.**, Nouvelles recherches sur le ferment mannitique. (Annal. de l'Institut. Pasteur. 1901. No. 7. p. 527—569.)
- Gottheil, O.**, Botanische Beschreibung einer Anzahl sporenbildender Bakterien, welche auf den unterirdischen Organen unserer Kulturpflanzen vorkommen, mit Rücksicht auf die Beziehungen zwischen den genannten Organen und den auf denselben vorkommenden Bakterien. [Inaug.-Diss.] gr. 8°. 95 p. Marburg 1901.
- Guilliermond, A.**, Recherches histologiques sur la sporulation des Schizosaccharomycètes. (Compt. rend. de l'Acad. d. scienc. T. CXXXIII. 1901. No. 4. p. 242—244.)
- Hansen, E. Ch.**, Aus der Hefenforschung der neueren Zeit. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. 1901. No. 28. p. 413—419.)
- Hashimoto, S.**, Zwei neue milchsäurebildende Kugelbakterien. (Hygien. Rundschau. 1901. No. 17. p. 821—834.)
- Hennings, P.**, Anpassungsverhältnisse bei Uredineen bezüglich der physikalischen Beschaffenheit des Substrates. (Hedwigia. 1901. Heft 2. p. 125—128.)

- Hérissey, H.**, Influence du fluorure de sodium dans la saccharification, par la séminase, des hydrates de carbone contenus dans les albumens cornés des graines de légumineuses. (Compt. rend. de l'Acad. d. scienc. T. CXXIII. 1901. No. 1. p. 49—52.)
- Lesage, F.**, Germination des spores de *Penicillium* dans l'air humide. (Compt. rend. de l'Acad. d. scienc. T. CXXXIII. 1901. No. 3. p. 174—176.)
- Libman, E.**, On certain features of the growth of bacteria on media containing sugars and serum: with remarks upon the acid production. (Journ. of med. research. Vol. VI. 1901. No. 1. p. 84—96.)
- Marchal, E.**, Les microbes en sucrerie. (Sucrierie belge. 1901. p. 227—230.)
- Meyer, E.**, Studien über den Körperbau der Anneliden. (Mitteil. d. zool. Stat. Neapel. Bd. XIV. 1901. Heft 3/4. p. 247—585.)
- Montgomery jun., Th. H.**, The identity of the Gordiacean species, *Chordodes Morgani* and *C. puerilis*. (Proceed. of the acad. of natur. sc. Philad. 1901. p. 289—292.)
- Nuttall, G. H. F. and Shipley, A. E.**, Studies in relation to malaria. II. The structure and biology of *Anopheles (Anopheles maculipennis)*. (Journ. of hygiene. Vol. I. 1901. No. 2, 4. p. 269—276, 451—484.)
- Odhner, Th.**, Revision einiger Arten der Distomengattung *Allocreadium* Les. (Zool. Jahrb. Abt. f. System., Geogr. u. Biol. d. Tiere. Bd. XIV. 1901. Heft 6. p. 483—520.)
- Flowright,** Observations sur la biologie de certaines urédinées relatives à la valeur de certaines espèces biologiques. (Extr. du Compte rendu du congrès internat. de botan. 1900.) 8°. 5 p. Lons-le-Saunier (Impr. Declume) 1901.
- Ruata, G. Q. e Caneva, G.**, Della scomposizione delle lecitine. Contributo allo studio della putrefazione e della diagnosi batterica. (Annali d'igiene sperim. Vol. XI. 1901. Fasc. 3. p. 341—354.)
- Saint-Remy, G.**, Le développement embryonnaire des cestodes et la théorie des feuilletts germinatifs. (Arch. de parasitol. T. IV. 1901. No. 3. p. 333—352.)
- Sticker, A.**, Die drei Arten des bewaffneten Palissadenwurmes. Eine zoologische und pathologische Studie. (Dtsche tierärztl. Wchschr. 1901. No. 33, 34. p. 333—336, 346—347.)
- Trouessart, E.**, Sur deux espèces formant un genre nouveau de Sarcopitides détriticoles parasites des fourures (*Mealia* n. g.). (Bullet. de la soc. zool. de France. T. XXVI. 1901. No. 3. p. 82—84.)
- Umber, F.**, Ueber die fermentative Spaltung der Nucleoproteide im Stoffwechsel. (Ztschr. f. klin. Med. Bd. XLIII. 1901. Heft 3/4. p. 282—303.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur. Luft und Wasser.

- Dhingra, M. L.**, The fallacy of the permanganate disinfection of wells (Hankin's method). (Brit. med. Journ. 1901. No. 2120. p. 414—415.)
- Massari, G.**, La sterilizzazione chimica delle acque. (Annali d'igiene sperim. Vol. XI. 1901. Fasc. 3. p. 331—340.)
- Monti, A.**, Sul problema delle acque potabili per la città di Pavia. (Riv. d'igiene e san. pubbl. 1901. No. 14—16. p. 498—510, 544—554, 575—590.)
- Morgenroth u. Weigt,** Bericht über die Wasserversorgung in und um Tientsin. (Hygien. Rundschau. 1901. No. 16. p. 773—783.)
- Savage, W. G.**, Neutral red in the routine bacteriological examination of water. (Brit. med. Journ. 1901. No. 2120. p. 400—401.)

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

- König, J., Spieckermann, A. u. Bremer, W.**, Beiträge zur Zersetzung der Futter- und Nahrungsmittel durch Kleinwesen. I. Die fettverzehrenden Kleinwesen. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. 1901. Heft 16, 17. p. 721—744, 769—780.)

Fleisch.

- Trebert, C.**, Ueber das Anfertigen der Präparate zur Trichinenschau und die hierzu zur Verwendung kommenden Glasplatten. (Rundschau a. d. Geb. d. Fleischbeschau etc. 1901. No. 17. p. 140—141.)

Milch, Molkerei.

- Hippius, A. E.**, Ein Apparat, um die Milch im Hausgebrauch zu pasteurisieren. (Djetsk. mediz. 1901. No. 1.) [Russisch.]

- Niven, J.**, The administration of the Manchester milk clauses. 1899. (Lancet. 1901. Vol. II. No. 4. p. 195—197.)
Sladen, E. S. St. B., Pasteurisation of infected milk. (Lancet. 1901. Vol. II. No. 6. p. 368—370.)
Zander, K., Ueber die Brauchbarkeit des Milchthermophors. [Inaug.-Diss.] 8°. 32 p. Halle 1901.

Wein, Weinbereitung.

- Desmoulins, A. M.**, La vinification par les levures cultivées. (Moniteur vinicole. 1901. No. 65. p. 258.)
 — —, La fermentation des mouts et le Botrytis cinerea. (Ibidem. No. 66. p. 262.)
Windisch, K., Ueber den Essigstich im allgemeinen und bei den Weinen des Jahres 1900 im besonderen. (Weinbau u. Weinhandel. 1901. No. 31. p. 351—353.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

- Boulshausen, F.**, Zur Kenntnis der Ursache des Klebrigwerdens von Brot. [Inaug.-Diss.] 8°. 23 p. Rostock 1901.

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

- Calmette, A. et Bolants, E.**, Sur l'application des procédés d'épuration biologique aux eaux résiduaires de Verviers. (Rev. d'hygiène. 1901. No. 8. p. 673—683.)
Simoncini, G. B. e Viola, D., L'influenza dell'inaffiamento sul contenuto batterico delle polveri di strada. (Annali d'igiene sperim. Vol. XI. 1901. Fasc. 3. p. 373—392.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitsserregende Bakterien und Parasiten.

- Bernau, Th.**, Bekämpfung des Spargelrostes. (Prakt. Ratgeber im Obst- u. Gartenbau. 1901. No. 20. p. 192.)
Bronstein, J., Zur Frage der Rattenvertilgung mittels des Danyszbacillus. (Deutsche med. Wchschr. 1901. No. 34. p. 577.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

- Boekhout, F. W. J. und Ott de Vries, J. J.**, Ueber die Reifung der Edamer Käse. (Orig.), p. 817.

Zusammenfassende Uebersichten.

- Jacobitz, E.**, Die Assimilation des freien, elementaren Stickstoffes. (Orig.) [Forts.], p. 833.

Referate.

- Buchner, Eduard**, Ueber die Zymase, p. 845.
Ludwig, F., Die Eichenhefe und die Hefenfrage, p. 846.
Magnus, P., Einige Bemerkungen zu Ernst Jacky's Arbeit über die Kompositen bewohnenden Puccinien vom Typus der Puccinia Hieracii, p. 849.
Kissa, H. W., Kropfmasserbildung bei Pirus Malus chinensis, p. 850.

Palla, E., Zur Kenntnis der Pilobolus-Arten, p. 847.

Solla, In Italien beobachtete Krankheiten, p. 850.

Speiser, P., Zur Kenntnis der geographischen Verbreitung der Ascomycetengattung Helminthophana Peyritsch, p. 846.

Entwicklungshemmung und Ver-nichtung der Bakterien etc.

Bokorny, Th., Wirkung des Alkohols auf die fermentierende Thätigkeit der Hefe, p. 851.

Du Roi, Erfahrungen über die Anwendung des Pasteurisierverfahrens zur Bekämpfung von Butterfehlern, p. 862.

Steuder, Alfred, Vertilgung gewisser Ackerunkräuter durch Metallsalze, p. 852.

Neue Litteratur, p. 854.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Prof. Dr. J. Behrens in Weinsberg i. W.,
Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Dr. v. Freudenreich in Bern, Privatdocent
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Dr. G. Harris Morris
in London, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädenswil, Dr. Erwin F. Smith in
Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr.,
Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel
und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VII. Band.

Jena, den 7. Dezember 1901.

No. 24.

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

*Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die
Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung
der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.*

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

**Ueber einige Versuche mit „Tyrogen“ (Bacillus nobilis
Adametz).**

Von Dr. Ed. v. Freudenreich,

Vorstand des bakteriologischen Laboratoriums der schweizerischen landwirtschaft-
lichen Versuchs- und Untersuchungsanstalten in Bern.

In der österreichischen Molkereizeitung (1900. No. vom 15. No-
vember, 1. und 15. Dezember) sowie in der Molkereizeitung (1900.
No. 51 und 52) und in der Milchzeitung (1900. No. 48) ist teils

von Prof. L. Adametz, teils von Prof. Winkler über Versuche, die Ersterer bei Göding in Mähren mit einem angeblichen Käse-
reifungserreger, dem *Bacillus nobilis* Adametz, im Laufe des
Jahres 1900 angestellt hatte, berichtet worden, deren Resultate,
wenn sie sich bestätigen sollten, für das Käseergewerbe von großer
Bedeutung wären. Eine zum Zwecke der Beurteilung dieser Ver-
suche ernannte Kommission hat nämlich folgendes Gesamturteil
über die Prüfung der in Kopcsan-Holicz im April und Mai vorigen
Jahres hergestellten Versuchskäse abgegeben:

„1) Die mit Reinkulturen hergestellten Versuchskäse zeigen
alle ohne Ausnahme folgende Eigenschaften:

- a) sie besitzen typisches Emmenthaler Aroma und Geschmack;
- b) sie weisen große Gleichmäßigkeit in beiden Punkten auf;
- c) sie scheinen in der Reifung nicht nur den Kontrollkäsen,
sondern auch den Emmenthalerkäsen von gleicher Größe und
gleichem Alter voraus zu sein.

2) Die Kontrollkäse (ohne Reinkulturen hergestellt) sind durch-
aus verschieden von den Reinkulturen und weisen folgende Charak-
teristik auf:

- a) sie sind vorwiegend Nißler;
- b) sie zeigen untereinander puncto Geschmack und Geruch eine
auffallende Ungleichheit;
- c) der Geschmack ist durchweg unangenehm bis ekelerregend
und ebenso kommt allen gleichmäßig der nachhaltig bittere Ge-
schmack zu;
- d) der Geruch ist teils knoblauchartig, teils fäulnisartig bis
jauchig.“

„Demnach erscheint die Frage, ob bakteriologisch schlechte
Milch mit Hilfe von Reinkulturen des *Bacillus nobilis* zu gut
schmeckenden und riechenden Hartkäsen von Emmenthaler Cha-
rakter verarbeitet werden kann, unserer Ansicht nach im bejahen-
den Sinne und vollständig gelöst.“

Wie aus früheren Arbeiten von Adametz bekannt ist, gehört
der von ihm entdeckte *Bacillus nobilis* zur Gruppe der soge-
nannten Tyrothrix-Bacillen, und es scheinen daher auf den
ersten Blick die angeführten Resultate zu Gunsten der Theorie zu
sprechen, welche nach dem Vorgange von Duclaux, Adametz
u. A. die Käseerzeugung unter diesen Tyrothrix- oder
Heubacillen sucht, während eine andere Theorie den Milchsäure-
fermenten bei der Reifung der Hartkäse die Hauptrolle zuschreibt.
Bei der praktischen und theoretischen Wichtigkeit, die dieser Frage
zukommt, ist eine Nachprüfung der Adametz'schen Resultate
dringend geboten und man kann nur wünschen, daß allenthalben
Versuche im Großen mit diesem *Bacillus nobilis* angestellt
werden, denn praktische Resultate werden am meisten dazu
beitragen, die Frage zu klären. Zwar möchte ich vor voreiligen
Schlußfolgerungen hier warnen. Voraussichtlich wird man näm-
lich die von Adametz unter dem Namen Tyrogen in den
Handel gebrachten Kulturen des *Bac. nobilis* hauptsächlich in
solchen Käseereien anwenden, welche im Vorjahre schlechte Käse

machten; werden nun dieses Jahr die Käse besser, so wird man gleich geneigt sein, nach dem Grundsatz post hoc propter hoc, im angewandten Tyrogen das Rettungsmittel zu sehen, während vielleicht ganz andere Faktoren, z. B. bessere Milch, größere Reinlichkeit, sorgfältigere Fabrikation, günstigere Temperatur u. s. w. die Besserung herbeigeführt haben werden, wie ja dieses häufig der Fall ist. Anscheinend positive Resultate in der Praxis werden daher in meinen Augen noch nicht beweisend sein und nur negative Resultate, d. h. das Ausbleiben einer günstigen Einwirkung auf die Käsereifung, dürften die Frage entscheiden.

Die erwähnten Versuche bedürfen um so mehr der Nachprüfung, als ihre Resultate trotz der Autorität der Kommission, welche ihnen eine so begeisterte Beurteilung zu teil werden ließ, doch zu einigen Bedenken Anlaß geben.

Einmal muß man sich wundern, daß so wichtige Versuche nicht in einer gut ausgerüsteten Käserei gemacht wurden, sondern in einem provisorisch dazu eingerichteten Raume und mit Hilfe eines ungeübten Käasers; der Mangel an Gärräumen könnte auch den Verlauf der Gärung anormal gestaltet haben.

Zweitens muß es auffallen, daß die Kontrollkäse überhaupt so schlecht ausfallen konnten, wie die Ausdrücke „ekelerregender Geschmack“, „knoblauchartiger, fäulnisartiger bis jauchiger Geruch“ beweisen, was auf ganz anormale Verhältnisse hinweist.

Ich habe daher meinerseits in diesem Frühjahr einige große Versuchskäse herstellen lassen, über deren Schicksal ich seiner Zeit berichten werde.

Da diese großen Käse indessen erst vor kurzem hergestellt werden konnten, weil die betreffenden Käsereien im Winter nur Magerkäse fabrizierten, so habe ich inzwischen eine Reihe von kleineren Versuchskäsen im Laboratorium gemacht, über welche es mir erlaubt sein mag, schon jetzt Mitteilung zu machen.

Bevor ich zu diesen Versuchen übergehe, muß ich jedoch noch einige andere Versuche anführen, die den Zweck hatten, eine etwaige Vermehrung des Bac. nobilis im Käse zu verfolgen.

Bekanntlich sind die Tyrothrix-Bacillen im allgemeinen im reifenden und reifen Käse nur in ziemlich geringer Zahl enthalten. Dies giebt Adametz selber zu, und alle Forscher, die die Bakterienflora der Hartkäse studiert haben, stimmen in diesem Punkte überein. Da nun diese Thatsache sich mit der Annahme, daß die Tyrothrix die Reifungserreger seien, nicht leicht in Einklang bringen läßt, hat Adametz die Hypothese aufgestellt, daß diese Bakterien in der Rinde sich entwickeln, und daß daher die Reifung auch bei den Hartkäsen von außen nach innen erfolge. In einer früheren Arbeit¹⁾ habe ich nun an der Hand mehrerer Analysen gezeigt, daß man in der Rinde sehr wenige Tyrothrix-Bacillen findet. Diese Untersuchungen habe ich seither wiederholt und stets das gleiche Resultat erhalten. Bis nun wirkliche Be-

1) Dieses Centralblatt. Bd. VI. p. 685.

weise vorliegen, muß ich daher diese Hypothese als gänzlich unbegründet zurückweisen. Mehr Beachtung verdient ein Einwand von Prof. Winkler. Derselbe sagt nämlich, daß bei Temperaturen von 30–40°, wie sie die frische Käsemasse besitzt, die *Tyrothrix*-Bacillen sich sehr rasch vermehren können; findet nun in den ersten Stunden nach der Fabrikation ein solches Wachstum statt, so werde gleichzeitig eine bedeutende Menge eiweißlösender Enzyme (Duclaux' Casease) gebildet, worauf sich die späteren Reifungserscheinungen zurückführen ließen. Obwohl Winkler und Adametz keinen einzigen Versuch zur Unterstützung dieser Hypothese anführen, ist dieses doch ein Punkt, der näher untersucht zu werden verdient, und ich werde nun die Resultate meiner bisherigen diesbezüglichen Forschungen mitteilen.

Zu diesen Untersuchungen wurden mehrere kleine Versuchskäse aus ca. 10 l Milch unter Zusatz von Tyrogen hergestellt und während der ersten Zeit nach ihrer Fabrikation täglich auf ihren Gehalt an *Bacillus nobilis* und an verflüssigenden Bacillen überhaupt untersucht. Was das Tyrogen anlangt, so stammte dasselbe aus der chemischen Fabrik von H. Beerend in Bremen. Das Präparat scheint sehr rein zu sein und *Bacillus nobilis* ließ sich leicht aus demselben züchten. Die kleinen Versuchskäse wurden bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Die Platten wurden mit gewöhnlicher, leicht alkalischer Gelatine hergestellt, da dieselbe das Wachstum verflüssigender Bacillen begünstigt, während die Milchsäurefermente nur kümmerlich auf ihr gedeihen.

Versuch vom 17. Dezember 1900. Käse aus 10 l gewöhnlicher Milch mit Zusatz der starken Dosis von 10 g Tyrogen hergestellt. Kunstlab.

Die Milch, vor dem Tyrogenzusatz untersucht, gab 30000 Bakterien per Kubikcentimeter. Auf der ersten Platte hatte man 4 verflüssigende Kolonien, die aber wegen der großen Kolonienzahl auf dieser Platte unrein waren; sie enthielten einen *Bac. fluorescens*. Auf der zweiten Platte waren überhaupt keine verflüssigenden Kolonien zu sehen. Nach Erwärmung auf 80° (zur leichteren Auffindung sporenhaltiger Bacillen) fand man 24 Kolonien des früher erwähnten *Bacillus* 1 per Kubikcentimeter.

Folgende Tabelle I (p. 861) giebt das Resultat der 7 Tage lang fortgesetzten Analysen.

In diesem Versuche vermehren sich die Bakterien kolossal bereits in den ersten 48 Stunden. Hauptsächlich vermehrt sich der verflüssigende *Micrococcus*, den ich in früheren Arbeiten bereits öfters erwähnt habe. Bald jedoch tritt ein Milchsäureferment, das *B. lactis acidii*, in den Vordergrund, während die anderen Arten zurücktreten. Die verflüssigenden Bacillen haben sich auch etwas vermehrt, aber in ganz bescheidenem Maße, und sehr bald nehmen sie ab. Merkwürdigerweise trifft man nur *B. fluorescens liquefaciens* und den *Bac. 1* an, die schon in der Milch enthalten waren, während keine *Nobilis*-Kolonien sich auffinden ließen. Dieses läßt sich indessen leicht erklären; im Tyrogen ist *B. nobilis* in Sporenform enthalten; es vergeht daher einige Zeit, bis

Tabelle I.
Käse mit Tyrogenzusatz.

	Bakterienzahl per Gramm	Verflüssigende Bacillen per Gramm
Frische Käsemasse	150 000 (fast ausschließlich ein verflüssigender Coccus)	1000
Nach 1 Tage	20 000 000 (zumeist der verfl. Coccus und ein nicht verfl. Coccus)	50 000 (Bac. 1)
„ 2 Tagen	162 500 000 (verfl. Coccus und Bac. lact. acidi)	75 000 (Bac. 1)
„ 3 „	312 500 000 (B. lact. acidi, verflüssigender Coccus, Coli-Bacillen)	200 000 (Bac. 1. u. B. fluorescens)
„ 4 „	350 000 000 (B. lact. acidi, verflüssigender Coccus, Coli-Bacillen)	25 000 (Bac. 1)
„ 5 „	gleiches Bild	50 000 (Bac. 1)
„ 6 „	ungefähr gleich viel Bakterien, aber das B. lact. acidi verdrängt allmählich die übrigen Bakterien	0
„ 7 „	nur B. lact. acidi und Coli-Bacillen	1000

diese Sporen auskeimen können, denn auch auf den direkt mit Tyrogen geimpften Platten sieht man die Kolonien erst nach 3 bis 4 Tagen auftreten; im Käse werden sie aber von den anderen Bakterien überwuchert und scheinen also gar nicht zum Auskeimen zu kommen.

Tabelle II.
Kontrollkäse aus der gleichen Milch, aber ohne Tyrogenzusatz (Kunstab).

	Bakterienzahl per Gramm	Verflüssigende Bacillen per Gramm
Frische Käsemasse	175 000 (verflüssigender Coccus)	0
Nach 1 Tage	12 500 000 (verflüssigender Coccus und nicht verflüssigende Kokken)	25 000 (Bac. fluorescens)
„ 2 Tagen	62 500 000 (B. lact. acidi, verflüssig. Coccus und nicht verflüssig. Kokken)	25 000 (Bac. 1)
„ 3 „	2—300 Millionen (meist B. lact. acidi)	10 000 (Bac. fluorescens)
„ 4 „	desgl.	25 000 (Bac. 1)
„ 5 „	desgl.	75 000 (Bac. 1 u. Bac. fluorescens)
„ 6 „	desgl.	12 500 (Bac. fluorescens)
„ 7 „	desgl.	10 000 (Bac. fluorescens)

Diese Tabelle giebt ein ganz ähnliches Bild, wie die vorige. Nur ein Punkt bedarf der Erklärung. Man könnte sich nämlich wundern, daß an dem einen Tage nur *Bac. fluorescens* gefunden wird, am folgenden nur *Bac. 1*, als ob bald der eine, bald der andere sich allein entwickelte. So ist es aber jedenfalls nicht, vielmehr sind sie wohl beide zur gleichen Zeit da, nur muß man bedenken, daß die schon an sich geringen Zahlen dieser verflüssigenden Bacillen durch Berechnung gefunden werden und meist

einer sehr geringen Koloniezahl entsprechen. Bei meinen Zählungen verreise ich gewöhnlich 0,2 g Käse in 5 ccm Bouillon. Ein Tropfen dieser Emulsion wird für die erste Platte gebraucht. Für die zweite Platte werden 2 Tropfen der Emulsion in 5 ccm Bouillon gegeben und 1 Tropfen davon mit der Gelatine vermischt. Eine Kolonie auf dieser zweiten Platte entspricht somit 25 000 Keimen per Gramm. Hatte man z. B. 1 Kolonie *B. fluorescens*, so hat man 25 000 *B. fluorescens* per Gramm, welcher Befund natürlich nur auf einem Zufalle beruht. Im Kontrollkäse ist von einer eigentlichen Vermehrung der verflüssigenden Bacillen nichts zu sehen.

Versuch vom 3. Januar 1901. Der eine Käse, aus 10 l Milch hergestellt, erhält 10 g Tyrogen und wird mit Kunstlab bereitet. Der Kontrollkäse wird mit Naturlab bereitet. Die Tyrogenkäse werden mit Kunstlab hergestellt, um eine Ueberwucherung des *B. nobilis* durch die Milchsäurefermente des Naturlabes zu vermeiden.

Die Milch enthielt 78 000 Bakterien per Kubikcentimeter; Kolonien verflüssigender Bacillen waren nicht da.

Tabelle III.
Tyrogenkäse.

	Bakterienzahl per Gramm	Verflüssigende Bacillen per Gramm
Frische Käsemasse	1 000 000 (verflüssigender Coccus)	0
Nach 1 Tage	18 000 000 (verflüssigender Coccus und <i>B. lactis acidii</i>)	0
„ 2 Tagen	über 100 000 Millionen gleiche Bakterien	0
„ 4 „	desgl.	0
„ 5 „	180 000 000 (besonders <i>B. lact. acidii</i> , einige <i>B. lact. aërogenes</i>)	0
„ 6 „	500 000 000 (fast nur <i>B. lact. acidii</i>)	0

Tabelle IV.
Kontrollkäse.

	Bakterienzahl per Gramm	Verflüssigende Bacillen per Gramm
Frische Käsemasse	1 250 000 (verflüssigender Coccus)	0
Nach 1 Tage	15 000 000 (verflüssigender Coccus und <i>B. lactis acidii</i>)	0
„ 2 Tagen	125 000 000 (gleiche Bakterien)	0
„ 4 „	62 500 000 (besonders <i>B. lact. acidii</i> , verflüss. Coccus und <i>B. lact. aërogenes</i>)	0
„ 5 „	62 500 000 (gleiche Bakterien)	0
„ 7 „	nur <i>B. lactis acidii</i> in sehr großer Anzahl	0

In diesem Versuche hatte ich die Milch aus einer sehr reinlichen Privatstallung bezogen, da die im Dezember zur Verwendung gekommene Sammelmilch einer großen Molkerei mit *B.*

fluorescens und Bac. 1 ziemlich stark verunreinigt gewesen war. Das Resultat war, daß dieses Mal gar keine Kolonien verflüssigender Bacillen zur Entwicklung kamen, auch nicht von B. nobilis, was deutlich zeigt, daß letzterer sich überhaupt nicht entwickelt hatte. In beiden dagegen sehr starke Vermehrung des verflüssigenden Coccus. In beiden trat auch B. lact. aërogenes auf, ein Blähungserreger. Worauf die Infektion zurückzuführen war, kann ich nicht angeben; die Infektion war indessen viel stärker bei dem Tyrogenkäse als bei dem mit Naturlab hergestellten Kontrollkäse; jedenfalls haben die mit dem Naturlab eingeführten Milchsäurebakterien in letzterem eine schützende Wirkung ausgeübt.

Versuch vom 14. Januar 1901. Dieses Mal wurde die Milch vor dem Verkäsen pasteurisiert, um dem Bac. nobilis bessere Gelegenheit zur Entwicklung zu geben. Sie wurde nachher mit 10 g Tyrogen und 100 ccm 3 Tage alter Milchkultur von Bac. nobilis geimpft. Vor der Pasteurisierung enthielt die Milch, welche aus der gleichen Stallung herrührte, wie diejenige vom 3. Januar, 70 000 Bakterien per Kubikcentimeter, unter welchen verflüssigende Bacillenkolonien nicht zu finden waren. Folgende Tabelle giebt über das Schicksal des Bac. nobilis in diesem Käse Auskunft:

Tabelle V.

	Bakterienzahl per Gramm
Frische Käsemasse	25 000, keine Bac. nobilis-Kolonien
Nach 1 Tage	8 000 000 Kolonien Bac. nobilis
„ 2 Tagen	3 875 000 „ „ „
„ 3 „	6 250 000 „ „ „
„ 5 „	1 250 000 „ „ „
„ 7 „	125 000 „ „ „
„ 9 „	1 000 000 „ „ „
„ 12 „	750 000 „ „ „
„ 22 „	keine Bac. nobilis-Kolonien mehr, dagegen hat sich ein anderer nicht verflüssigender sporenhaltiger Bacillus entwickelt (900 000 Kolonien per Gramm).
„ 35 „	kein Bac. nobilis. 125 000 Kolonien des nicht verflüssigenden Bacillus und 1000 Kolonien vom Bacillus 1.

In diesem Käse aus pasteurisierter Milch sehen wir nun eine anfänglich sehr starke Vermehrung des Bac. nobilis eintreten, aber schon nach wenigen Tagen nimmt dieser Organismus ab. Augenscheinlich rühren die nunmehr entstehenden Kolonien von den im Anfangsstadium gebildeten Sporen her, denn die Zahlen bleiben so ziemlich gleich. Nebenbei gesagt, zeigt dieser Versuch, daß Tyrothrix-Bacillen sich' unschwer aus Käse züchten lassen, wenn sie nur vorhanden sind.

Ein anderer ebenfalls aus pasteurisierter Milch hergestellter, mit Bac. nobilis geimpfter Käse, der aber nicht mehrere Tage hintereinander, sondern nur am Tage nach seiner Herstellung untersucht wurde, zeigte auch eine starke Vermehrung dieses Mikroorganismus (900 000 per Gramm), welche, wie wir gesehen haben, ausbleibt, wenn die gewöhnlichen Milzbakterien vorhanden sind.

Versuch vom 5. Januar 1901. Käse aus gewöhnlicher Milch (10 l), aus der bereits erwähnten Privatstallung stammend, mit Naturlab hergestellt, aber nur 3mal untersucht.

Tabelle VI.

	Bakterienzahl per Gramm	Verflüssigende Bacillen per Gr.
Frische Käsemasse	425 000 (verflüssigender Coccus und nicht verflüssigende Bakterien)	0
Nach 1 Tage	33 750 000 verflüssigender Coccus und Milchsäurefermente	0
Nach 2 Tagen	62 500 000 die gleichen Bakterien	0

Auch hier sehen wir die verflüssigenden Bacillen sich in keiner Weise vermehren.

Versuch vom 27. Dezember 1900. Bei Anlaß der Herstellung einiger Magerkäse mit Tyrogenzusatz machte ich auch einige Zählungen in 2 Käsen, die also unter normalen Verhältnissen hergestellt worden waren.

Tabelle VII.

	Kontrollkäse Bakterienzahl per Gramm	Tyrogenkäse Bakterienzahl per Gramm
Frische Käsemasse	5 300 000 verflüssig. Kokken und nicht verfl. Bakterien	6—7 Mill. verfl. Kokken und nicht verfl. Bakterien
Nach 1 Tage	8 875 000 gleiche Bakterien und auch einige <i>Bac. fluorescens liquefaciens</i>	15 000 000 verfl. Kokken
„ 2 Tagen	16—17 Mill. verfl. Kokken	—
„ 6 „	8—9 Mill. nur der verflüssigende Coccus	12 500 000 verfl. Kokken
„ 13 „	ca. 7 Mill. verfl. Kokken und ca. 100 000 <i>B. lact. acidi</i>	ca. 4 $\frac{1}{2}$ Mill. verfl. Kokken und ca. 250 000 <i>B. lact. acidi</i>

Die Kellertemperatur in der Molkereischule Rütli, in welcher diese Käse hergestellt wurden, war damals ziemlich niedrig; dieses ist der Grund der weniger starken Bakterienvermehrung als in den übrigen bei Zimmertemperatur gehaltenen Käsen. Wie man sieht, hat sich auch hier *Bac. nobilis* nicht entwickelt.

Da der Tyrogenkäse nach Vorschrift von Prof. Adametz mit einer Tyrogenaufschwemmung auch bepinselt worden war, so wurde auch seine Rinde bakteriologisch untersucht. Unter der großen Anzahl gewachsener Kolonien gelang es mir aber nicht, Kolonien des *Bac. nobilis* zu finden.

Ich erachte freilich diese Versuche noch nicht als abgeschlossen, und ich gedenke, die Frage der Bakterienentwicklung im Käse während den ersten Tagen nach seiner Herstellung noch weiter zu verfolgen. Ich glaube indessen, daß die erwähnten Versuche es sehr unwahrscheinlich machen, daß *Tyrothrix*-Bacillen sich in nennenswerter Weise während dieser Zeit entwickeln können. Die

Annahme von Prof. Winkler, daß *Bac. nobilis* sich, während der Käse noch warm sei, rasch vermehre und genug Casease produziere, um die spätere Reifung zu veranlassen, scheint mir daher vorläufig nicht hinreichend begründet zu sein. Wenn dann auch in späteren Stadien des Reifungsprozesses eine Entwicklung dieser Bakterienart ausbleibt, so ist schwer zu erklären, wie die Reifung von ihr bewerkstelligt werden könne. Viel eher dürfte anzunehmen sein, daß die verflüssigenden Kokken, deren Vermehrung in den ersten Tagen eine so starke ist, hier eine wichtige Rolle spielen.

Ich gehe nun über zu den Resultaten, welche ich bei Bereitung kleiner Versuchskäse mit Tyrogenzusatz resp. Kulturen von *Bac. nobilis* erhalten habe. Ich ging dabei von dem Gedanken aus, daß, falls die Adametz'sche Theorie richtig sei, der Tyrogenzusatz sich doch in irgend einer Weise in der Schnelligkeit und im Grade der Reifung bemerkbar machen müsse. Die Käse wurden daher in verschiedenen Stadien der Reifung untersucht, chemisch und bakteriologisch. Besonders wurde aber auch der Geschmack und das Aussehen der Käse notiert. Um möglichst objektiv vorzugehen, wurden die Käse stets von mehreren Personen beurteilt, unter anderem von folgenden Herren: Dem Abteilungschef auf dem schweizerischen Landwirtschaftsdepartement, dem Sekretär des gleichen Departements, dem Kantonschemiker in Bern.

1. Versuch vom 17. Dezember 1900. 2 Käse, aus je 10 l Milch hergestellt. Der eine erhält 10 g Tyrogen und wird mit Kunstlab bereitet; der zweite dient als Kontrollkäse und wird mit Naturlab bereitet. Die Tyrogenkäse wurden, wie bereits erwähnt, stets mit Kunstlab hergestellt, um eine zu große Konkurrenz der im Naturlab so zahlreichen Milchsäurefermente zu vermeiden und das Wachstum der *Nobilis*-Bacillen zu erleichtern. Gewöhnlich setzte man dem Kontrollkäse noch einige Kubikcentimeter von Milchsäurebakterienkulturen zu.

Der Tyrogenkäse wurde noch im frischen Zustande und nach 24 Stunden bakteriologisch untersucht, um die Bakterienentwicklung wenigstens in der allerersten Zeit zu verfolgen.

Die frische Käsemasse enthielt 650 000 Bakterien per Gramm, darunter 500 verflüssigende Bacillen. Nach 24 Stunden hatte man bereits 12500 000 Bakterien per Gramm und 175 000 verflüssigende Bacillen, aber darunter nicht *Bac. nobilis*, sondern nur *Bac. fluorescens* und *Bac. 1*.

Die Untersuchung fand statt am 25. Januar 1901, also nach 5 Wochen.

Der Tyrogenkäse hat weißlichen Teig, einige Löcher, wenig entwickelten Geruch (nur 1 Beobachter erkannte Emmenthaler Aroma), auch wenig entwickelten, faden Geschmack. Der Kontrollkäse hat gelblichen Teig, mehr Löcher, schärferen Geruch¹⁾ und deutlich gereifteren Geschmack.

1) Ein Beobachter fand den Geruch etwas säuerlich. Der Säuregrad war indessen etwas niedriger als beim Tyrogenkäse, 1,2 ccm $\frac{1}{10}$ NaOH für 25 ccm des Käseextraktes gegen 1,4 ccm $\frac{1}{10}$ NaOH.

Die Kulturen gaben nur Milchsäurebakterien, sie sind aber im Kontrollkäse zahlreicher. *Bac. nobilis* ließ sich aus dem Tyrogenkäse nicht züchten.

Die chemische Analyse¹⁾ ergab für den Tyrogenkäse 18,77 Proz. LN und 3,64 Proz. ZN und für den Kontrollkäse 18,31 Proz. LN und 3,17 Proz. ZN. Drückt man den ZN in Prozenten des LN aus, so bekommt man 19,39 Proz. im ersten und 17,31 Proz. im zweiten Käse.

2. Versuch vom 18. Dezember 1900. Ganz gleicher Versuch. Untersuchung am 7. März 1901, also nach ungefähr $2\frac{1}{2}$ Monaten.

Der Tyrogenkäse war auch unmittelbar nach seiner Herstellung und nach 24 Stunden auf verflüssigende Bacillen untersucht worden. Frisch enthielt er 1000 verflüssigende Bacillen per Gramm, nach 24 Stunden 275000, aber nur *Bac. fluorescens* und *Bac. 1*. Der langsam wachsende *Bac. nobilis* kam auf den Platten nicht zur Entwicklung.

Am 7. März haben beide gelbliche Teig, der Kontrollkäse ist jedoch besser gelocht. Der Teig des Tyrogenkäses ist etwas weicher, aber leicht bitterlich. Der Kontrollkäse hat reineren Geschmack.

Die bakteriologische Untersuchung ergab die Abwesenheit von Kolonien des *Bac. nobilis* im Tyrogenkäse, dagegen die Gegenwart zahlreicher Kolonien des *Micrococcus lactis amari*. Auch im Kontrollkäse war letzterer Mikroorganismus zu finden, aber in viel geringerer Zahl. Die Abwesenheit der Milchsäurefermente, wenigstens im Anfange der Reifung, scheint das Ueberhandnehmen des *Micrococcus lactis amari* im Tyrogenkäse begünstigt zu haben. Vielleicht ist auch die größere Lösung und Zersetzung auf seine Rechnung zu setzen. Eigentümlich war auch, daß der Teig beim Verreiben des Käses sich sehr weich und schmierig zeigte.

Die chemische Analyse gab für den Tyrogenkäse 30,73 Proz. LN und 4,97 Proz. ZN und für den Kontrollkäse 16,25 Proz. LN und 3,93 Proz. ZN, oder in Prozenten des LN 16,16 Proz. und 24,18 Proz.

3. Versuch vom 19. Dezember 1900. Ganz gleicher Versuch. In den 2 vorhergehenden Versuchen war der Tyrogenkäse später auch mehrmals mit einer Tyrogenemulsion bepinselt worden, in diesem Versuche aber nicht.

Untersuchung am 16. April, also nach beinahe 4 Monaten. Beide Käse sind gut gereift. Der Tyrogenkäse ist jedoch ganz leicht bitter; sein Teig ist weicher.

Die bakteriologische Untersuchung ergab, wie im vorigen Käse, die Gegenwart des *Micrococcus lactis amari*, der aber zahlreicher im Tyrogenkäse war. In beiden fanden sich ein paar Kolonien von *Bac. 1*, aber *Bac. nobilis* ließ sich auf den Platten

1) Wie bei früheren Arbeiten beschränkte sich die chemische Analyse auf die Bestimmung des Stickstoffes der löslichen stickstoffhaltigen Stoffe (LN) und des Stickstoffes der Zersetzungsprodukte (ZN), in Prozenten des Gesamtstickstoffes ausgedrückt.

des Tyrogenkäses nicht nachweisen. Die chemische Untersuchung ergab für den Tyrogenkäse 39,60 Proz. LN und für den Kontrollkäse 23,33 Proz. LN; der Tyrogenkäse hatte 6,43 Proz. ZN, der Kontrollkäse 5,38 Proz. ZN, oder, in Prozenten des LN ausgedrückt, 16,23 und 23,06 Proz. ZN.

4. Versuch vom 20. Dezember 1900. Beide Käse werden aus pasteurisierter Milch hergestellt, der eine bekommt 10 g Tyrogen mit Kunstlab, der andere Naturlab mit Kulturen von Milchsäurefermenten und des verflüssigenden *Micrococcus*. Der Tyrogenkäse wurde später mehrmals bepinselt. Die Milch enthielt noch nach der Pasteurisierung den Bac. 1, der sich, wie es scheint, in den ersten 24 Stunden nach der Herstellung des Käses bis zu einem gewissen Grade entwickelte, da eine Zählung 80000 Kolonien desselben per Kubikcentimeter ergab. Eine Vermehrung von *Bac. nobilis* dagegen wurde nach 24 Stunden nicht konstatiert. Die Untersuchung dieser beiden Käse geschah am 1. Februar 1901, also schon nach ca. 6 Wochen.

Der Kontrollkäse war normal, gut gelocht und etwas gereift. Der Tyrogenkäse war weicher, fast gar nicht gelocht, mit Ausnahme eines großen, hohlen Raumes, und sein Geschmack war bitter, nicht käseartig.

Die bakteriologische Untersuchung zeigte im Kontrollkäse nur Milchsäurefermente. Im Tyrogenkäse hatte sich auch *Bac. lactis acidi* entwickelt, aber weniger stark als im Kontrollkäse. Die Platten gaben keine Kolonien von *Bac. nobilis*, aber Impfungen der Käseemulsion in Bouillon zeigten seine Gegenwart.

Die chemische Untersuchung gab 21,69 Proz. LN für den Tyrogenkäse, 15,80 Proz. für den Kontrollkäse, ersterer hatte 1,88 Proz. ZN, der Kontrollkäse dagegen 2,61 Proz., oder, in Prozenten des LN ausgedrückt, 8,66 und 16,52 Proz.

5. Versuch vom 21. Dezember 1901. Gleicher Versuch wie der vorige.

Untersuchung am 2. April, nach ca. 3 $\frac{1}{2}$ Monaten. Der Tyrogenkäse ist bitter und hat sehr wenig Käsegeschmack. Teig weißer als bei dem Kontrollkäse, auch weniger gelocht. Der Kontrollkäse hat ausgeprägten, reiferen Käsegeschmack; er hat viele Löcher und sein Teig ist gelblicher.

Die bakteriologische Untersuchung zeigte das Vorhandensein zahlreicherer Bakterien im Kontrollkäse als im Tyrogenkäse. So blieben z. B. die Agaroberflächenplatten des letzteren ganz steril. *Bac. nobilis* fand man nicht wieder. Der Kontrollkäse dagegen zeigte zahlreiche Milchsäurefermente.

Die chemische Analyse gab für den Tyrogenkäse 21,59 Proz. LN und 2,27 Proz. ZN, für den Kontrollkäse 16,80 Proz. LN und 3,36 Proz. ZN, oder, in Prozenten des LN ausgedrückt, 10,51 und 20 Proz.

6. Versuch vom 3. Januar 1901. Es sind dies die bereits erwähnten Käse, welche zu dem Zwecke hergestellt worden waren, eine anfängliche Vermehrung des *Bac. nobilis* zu konstatieren. Der eine Käse hatte 20 g Tyrogen bekommen.

Die Untersuchung fand statt nach 3 Monaten. Beide Käse sind ziemlich gut gereift. In dem Geschmacke nimmt man keinen Unterschied wahr.

Bakteriologisch verhalten sich beide gleich, sie enthalten nur Milchsäurefermente.

Auch in chemischer Hinsicht ist kein nennenswerter Unterschied zu verzeichnen, 15,86 Proz. LN und 3,87 Proz. ZN im Tyrogenkäse, 14,69 Proz. LN und 3,35 Proz. ZN im Kontrollkäse.

Aus diesen 6 Versuchen, die mit Tyrogen ausgeführt wurden, ersehen wir folgendes:

In den 4 Versuchen (1, 2, 3 und 6) mit gewöhnlicher Milch, in welchen die Käse nach 5 Wochen 2 $\frac{1}{2}$, 4 und 3 Monaten untersucht wurden, konstatieren wir in keinem Falle, was den Geschmack anlangt, einen Vorsprung des Tyrogenkäses gegenüber dem Kontrollkäse; im Gegenteil waren die Tyrogenkäse in den Versuchen 2 und 3 sogar bitter geworden. Indessen glaube ich nicht, daß in diesem Falle das Bitterwerden durch den *Bac. nobilis* verursacht wurde, da eine Entwicklung desselben überhaupt nicht nachgewiesen wurde. Vielmehr dürfte diese Erscheinung auf das Ueberhandnehmen des *Micrococcus lactis amari* zurückzuführen sein, der sich in den mit Kunstlab bereiteten Käsen leichter entwickeln konnte, als in den mit Naturlab hergestellten und daher an Milchsäurefermenten reicheren Kontrollkäsen. Auch scheinen sich in den Tyrogenkäsen, wenigstens während der ersten Zeit, *Bac. 1* und *Bac. fluorescens liquefaciens* bis zu einem gewissen Grade entwickelt zu haben. Damit im Zusammenhange steht es wohl auch, daß in den Käsen vom 18. und 19. Dezember der Tyrogenkäse stets mehr LN und auch etwas mehr ZN enthielt. Wenn auch die Bildung des Zersetzungstickstoffes als eines der Hauptmerkmale der Reifung bei Emmenthalerkäsen gelten muß so kann es freilich auch geschehen, daß bakterielle Vorgänge im Käse von Lösung und weiterer Zersetzung des Caseïns begleitet werden, ohne daß damit der richtige Reifungsvorgang verbunden wäre. Daß letzteres nicht der Fall war, zeigt der Geschmack der Tyrogenkäse in den erwähnten Versuchen. Uebrigens ändert sich das Verhältnis zu Gunsten der Kontrollkäse, wenn man den Zersetzungstickstoff in Prozenten des Stickstoffes der löslichen stickstoffhaltigen Substanzen ausdrückt.

Daß ferner *Bac. nobilis* nicht die Ursache der Bildung dieses Zersetzungstickstoffes sein konnte, zeigen die Versuche mit pasteurisierter Milch, in welchen die Kontrollkäse stets mehr Zersetzungstickstoff enthielten, obwohl gerade in solchen Käsen *Bac. nobilis* am besten Gelegenheit hatte, sich zu entwickeln.

In den weiteren Versuchen brauchte ich nun nicht bloß Tyrogen, sondern lebenskräftige Kulturen des *Bac. nobilis*, um zu sehen, ob solche vielleicht wegen der in denselben enthaltenen Casease wirksamer sein würden. Sind doch die eingangs dieser Arbeit besprochenen Adametz'schen Versuche mit Milchkulturen ange stellt worden.

7. Versuch vom 5. Januar 1901. 2 Käse werden aus sehr guter Milch hergestellt (Milch der Privatstallung). Der eine Käse wird mit Kunstlab hergestellt unter Zusatz von 200 ccm 26-tägiger Bouillonkultur des *Bac. nobilis*. Der Kontrollkäse wird mit Naturlab gemacht; letzterer war leider etwas alt. Beide Käse wurden ganz frisch und nach 24 Stunden bakteriologisch untersucht. In keinem ließ sich eine Vermehrung verflüssigender Bacillen nachweisen; dagegen hatte sich der verflüssigende Coccus sehr stark vermehrt.

Die Käse wurden am 8. März, also nach 2 Monaten, untersucht. Beide sind wenig gereift. Der mit Casease versetzte Käse ist etwas weicher, hat aber fast keine Lochung, während der andere gut gelocht ist.

In beiden haben sich Milchsäurefermente entwickelt. Der Caseasekäse enthielt 13,10 Proz. LN und 3,41 Proz. ZN, der Kontrollkäse 8,95 Proz. LN und 2,28 Proz. ZN, oder, in Prozenten des LN ausgedrückt, 26,03 und 25,47 Proz. ZN. In diesem Versuche scheint somit die Casease die Lösung des Caseïns beeinflußt zu haben, was ja zu erwarten war.

8. Versuch vom 14. Januar 1901. Der in diesem Versuche aus pasteurisierter Milch hergestellte Käse ist bereits erwähnt worden, und wir haben gesehen, daß *Bac. nobilis* sich in demselben anfänglich stark vermehrt hatte. Da derselbe außer Tyrogen noch 100 ccm Milchkultur von *Bac. nobilis* zugesetzt erhalten hatte, wurde er in diese Versuchsreihe aufgenommen und am 19. April untersucht. Sein Teig war weißlich geblieben, er hatte keine Löcher. Sein Geschmack war schlecht, obwohl nicht bitter, und gar nicht zu vergleichen mit Käsen aus pasteurisierter Milch mit Naturlab hergestellt.

Er hatte 21,20 Proz. LN und nur 1,25 Proz. ZN, also in Prozenten des LN nur 5,89 Proz. ZN.

Die Platten blieben steril. *Bac. nobilis* scheint also zu dieser Zeit bereits abgestorben gewesen zu sein; Milchsäurefermente waren nicht zur Entwicklung gekommen.

Hier also haben wir trotz Tyrogen und Casease und einer Entwicklung von *Bac. nobilis* in der ersten Zeit keine Reifungserscheinungen.

9. Versuch vom 16. Januar 1901.

In diesem Versuche wurden 3 Käse aus pasteurisierter Milch hergestellt:

Käse I mit Kunstlab, 200 ccm frischer Milchkultur (3 Tage alt) und 200 ccm alter Bouillonkultur von *Bac. nobilis*;

Käse II mit Naturlab und Milchsäurefermentkulturen;

Käse III mit Naturlab, Milchsäurefermenten und 200 ccm Kultur des verflüssigenden Coccus.

Die Untersuchung fand statt am 9. April.

Käse I hat schlechten Geschmack, ist leicht bitter und ist weich beim Verreiben.

Käse II hat weit mehr Käsegeschmack, ist aber etwas trocken und säuerlich.

Käse III ist weicher als II und noch besser im Geschmack, doch auch etwas säuerlich.

Die bakteriologische Untersuchung ergab das Vorhandensein von noch 100000 *Bac. nobilis* per Gramm in Käse I, aber keine Milchsäurefermente; in den beiden anderen Käsen fand man nur Milchsäurefermente. Der verflüssigende Coccus war im Käse III schon abgestorben.

Die chemische Untersuchung ergab für Käse I 25,80 Proz. LN und 2,80 Proz. ZN, für Käse II 13,90 Proz. LN und 3,17 Proz. ZN und für Käse III 18,30 Proz. LN und 4,46 Proz. ZN, oder, in Prozenten des LN ausgedrückt, resp. 10,83, 22,80 und 24,37 Proz. ZN.

Am besten reifte also der mit Milchsäurefermenten und dem verflüssigenden Coccus geimpfte Käse. Ueber die Rolle des letzteren bei der Reifung werde ich noch weitere Versuche anstellen. Sehr wahrscheinlich erleichtert er das Werk der Milchsäurefermente, indem er die Lösung des Caseïns herbeiführt. Seine so starke Vermehrung in der ersten Zeit spricht jedenfalls dafür.

Auch in dieser Versuchsserie scheint der *Bac. nobilis*, resp. die von ihm gebildeten Enzyme den Käsereifungsprozeß in keiner Weise begünstigt zu haben, da die Kontrollkäse immer besser ausfielen. Höchstens dürfte er lösend auf das Caseïn wirken; aber nach den Versuchen, aus welchen sich ergibt, daß er überhaupt sich nicht vermehrt, ist kaum anzunehmen, daß er in der Praxis diese Rolle spielt. Bis auf weiteres scheint es mir daher gar nicht wahrscheinlich, daß wir in dem Adametz'schen *Bac. nobilis* den Reifungserreger des Emmenthalerkäses besitzen.

Die Resultate, welche mir die großen Versuchskäse geliefert haben, scheinen mir das Gleiche zu ergeben:

1) In der Käseerei der Berner Alpen-Milchgesellschaft in Stalden ließ ich am 28. Febr. d. J. zwei Käse aus je 400 l Milch herstellen. Für den Kontrollkäse verwendete man den an Milchsäurefermenten so reichen Naturlab; für den Versuchskäse, der mit der Hälfte des Inhaltes einer Tyrogenflasche geimpft worden war, wurde Kunstlab verwendet; letzterer wurde auch vorschriftsgemäß mit Tyrogen bepinselt. Die Käse wurden am 19. Aug. untersucht. Der Kontrollkäse war nun ziemlich gut, der Versuchskäse dagegen bitter. *Bac. nobilis* wurde zu dieser Zeit in demselben nicht mehr gefunden.

2) Bei Anlaß der Fabrikation einer Serie von Magerkäsen in der Molkereischule Rütli wurden zwei derselben mit Tyrogen geimpft. Zu keiner Zeit konnte irgend ein Unterschied zwischen diesen und den Kontrollkäsen wahrgenommen werden.

3) In der Käseerei zu Münchenbuchsee wurden folgende Versuche ausgeführt:

25. April 1901. Versuchskäse aus ca. 900 l. Naturlab und Tyrogenzusatz (1 Flasche). Spätere Bepinselung mit Tyrogen. Kontrollkäse mit Naturlab.

26. April 1901. Ganz gleicher Versuch.

3. Mai 1901. Versuchskäse mit Kunstlab und Tyrogenzusatz. Kontrollkäse mit Naturlab.

4. Mai 1901. Ganz gleicher Versuch.

14. Mai 1901. Zwei Versuchskäse mit Tyrogen und $\frac{3}{4}$ l Milchkultur von *Bac. nobilis*. Der eine erhielt Naturlab, der andere Kunstlab.

Zwei Kontrollkäse mit Naturlab.

Das Resultat war nun im August d. J. folgendes: Während der Kontrollkäse vom 25. April gut ausfiel, war der Versuchskäse Ausschußwaare. Die Käse vom 26. April wurden vom Händler zu gleichem Preise angekauft, da ein Unterschied nicht zu merken war. Alle Maikäse, Versuchs- und Kontrollkäse, wurden ebenfalls vom Händler ohne Preisunterschied angekauft. Vielleicht war jedoch der Versuchskäse vom 14. Mai leicht bitter und diejenigen vom 3. und 4. Mai etwas fader im Geschmack als die Kontrollkäse; die Unterschiede waren aber nach meiner Ansicht nicht ausgesprochen genug, um daraus einen bestimmten Schluß zu ziehen. Sicher aber ist, daß von einer günstigen Wirkung des Tyrogens keine Rede sein konnte.

Nachdruck verboten.

Bacillus acidificans longissimus und Bacillus Delbrücki.

Von Prof. Dr. Lafar in Wien.

Aus einem mir heute zugekommenen Sonderabdrucke ersehe ich, daß die No. 30 des laufenden Jahrganges der hier nicht aufliegenden Wochenschrift für Brauerei einen Artikel gebracht hat, betitelt: „Zur Kenntnis der Milchsäurebakterien der Brennereimaische, der Milch und des Bieres“. In dieser Abhandlung vergleicht der Verf. eine Anzahl von Arten von Milchsäurebakterien, darunter auch den *Bacillus Delbrücki* Leichmann, und sagt betreffend diesen letzteren: „Von Lafar später *Bacillus acidificans longissimus* genannt.“

Die in diesem Satze aufgestellte Behauptung kann vor einer gerechten Kritik nicht standhalten. Ja, sie würde überhaupt einen Sinn nur in dem Falle haben können, wenn der *Bac. Delbrücki* früher als der *Bac. acidificans longissimus* auf den Plan getreten wäre. In Wirklichkeit war jedoch die Reihenfolge die umgekehrte, wie jeder Kenner der einschlägigen Litteratur weiß. Als Herr Dr. Leichmann, damals auf dem Gebiete der Molkereibakteriologie thätig, seinen *Bac. Delbrücki* in die Litteratur einführte und von dessen eventueller praktischer Verwendung für die Zwecke der künstlichen Säuerung des Hefengutes sprach, und zwar in dieser Zeitschr. 1896. No. 9, lag bereits in No. 6/7 dieser Zeitschrift meine Mitteilung veröffentlicht vor, in der ich über die erfolgreichen Ergebnisse von mehrjährigen, schon 1894 begonnenen Versuchen betreffend die mit Reinzuchten auszuführende künstliche Säuerung des Hefengutes im praktischen Betriebe unserer Brennerei zu Hohenheim berichtet und den neuen

Säuerungserreger mit dem Namen *Bac. acidificans longissimus* belegt hatte.

Dies also ist aktengemäß der historische Verlauf der Angelegenheit. Die Selbständigkeit der Arbeit des Herrn Dr. Leichmann soll dabei durchaus nicht bestritten werden.

Wenn der Herr Verf. der eingangs angeführten Abhandlung zu der Ueberzeugung von der Identität des *Bac. Delbrücki* mit dem *Bac. acidificans longissimus* kommen sollte, wird ihm demnach kaum etwas anderes übrig bleiben, als über beide mit Schweigen hinwegzugehen. Denn ich bin noch nicht zurückgetreten von der (zarterweise in die Form eines Wunsches gekleideten) Bedingung, unter der ich an das Institut, an welchem der Herr Verf. wirkt, im Jahre 1896 bald nach Veröffentlichung meiner oben bezeichneten Mitteilung eine Ueberimpfung meines *Bacillus*, und zwar auf strikten höheren Befehl, abgelassen habe, dahingehend, daß die weitere wissenschaftliche Bearbeitung dieses *Bacillus* mir selbst vorbehalten bleibe.

Wien, den 3. August 1901.

Nachdruck verboten.

Einige javanische, auf Cocciden parasitierende Ascomyceten.

Von Prof. Dr. A. Zimmermann.

Mit 5 Abbildungen.

1. *Torubiella luteorostrata* n. sp.

Stroma flach ausgebreitet, ungefähr kreisförmig, Durchmesser bis 6 mm, innen braunrot, außen sehr dünnhäutig und weiß. Sehr zahlreiche Perithechien auf dem Stroma, meist gruppenweise vereinigt, geschnäbelt, gerade oder schwach gekrümmt, 0,4—0,8 mm lang, an der Basis bis 0,15 mm breit, blutrot, mit gelber Spitze, Oberfläche durch rötliche Myceläden rauh. Asci fädig, bis 0,4 mm lang, 4 μ breit, 8-sporig, Membran an der Spitze verdickt. Sporen in den Ascis spiralig gewunden, 1 μ breit. Septierung oder Zerfall in Teilsporen konnte nicht beobachtet werden. Paraphysen fehlen.

Im Urwald bei Buitenzorg auf einer Coccide, die auf den Blättern eines nicht bestimmten Baumes saß.

Von *Torubiella rubra* Pat. & Lagerh.¹⁾ namentlich durch die gelbe Mündung der kleineren Perithechien und dadurch, daß auf demselben Stroma viel zahlreichere Perithechien sitzen, unterschieden.

2. *Nectria (Eunectria) coccidophthora* n. sp.

Die zuerst entstehenden Conidienlager (Fig. 1, I, a) sind mennigrot, in Wasser stark aufquellend, kurzgestielt. Stiel 0,3—

1) Bulletin de la soc. mycol. de France. 1893. p. 154.

0,4 mm lang, Köpfchen 0,4 bis 0,45 mm lang. Die Conidien sind umgeben von Haaren, die stellenweise durch leiterförmige Anastomosen seitlich in Zusammenhang stehen und nach vorn konvergieren. Conidien (Fig. 1, II, III) farblos, cylindrisch, an den Enden schwach gebogen, 7—9-zellig, 110—120 μ lang, 6 μ breit.

Die Peritheccien (Fig. 1, Ib) entstehen meist zu mehreren am Grunde eines Conidienlagers oder auch isoliert an anderen Stellen des die befallene Laus durchwachsenden Stromas. Sie sind kugelig, karminrot, mit warzenförmiger, etwas heller gefärbter Mündung, bis 0,28 mm lang und 0,23 mm breit. Asci 8-sporig, 0,1 mm lang. Sporen (Fig. 1, II) 2-zellig, farblos, stumpf, nicht eingeschnürt, 17—20 μ lang und 7—8 μ breit.

Auf *Mytilaspis* sp. auf *Coffea arabica* und auf *Parlatoria Zizyphi* auf *Citrus* sp., Buitenzorg. Auf *Citrus* wurde der Pilz gleichzeitig mit *Ophionectria coccicola* in großen Mengen beobachtet; aber dennoch wurden die Läuse dadurch nicht vollständig zum Verschwinden gebracht.

Der Pilz ist wohl sicher mit *Nectria aurantiicola* B. und Br.¹⁾ nahe verwandt, unterscheidet sich von dieser aber schon durch die abweichende Farbe der Peritheccien. Außerdem ist auch die Gestalt der Conidienlager bei dem oben beschriebenen Pilze eine andere als bei *Nectria aurantiicola* nach der Abbildung von Berkeley und Broome (l. c.).

3. *Lisea Parlitoriae* n. sp.

Stroma parasitisch in Läusen. Peritheccien dicht rasig, frei, kugelig, mit warziger Mündung, 0,2—0,25 mm lang, 0,15—0,18 mm breit, makroskopisch schwarz, Wandung unter dem Mikroskop dunkelviolett bis schwarz, beim Kochen in Chloralhydrat schön rotviolett werdend. Asci cylindrisch, 8-sporig. Sporen elliptisch, stumpf, 2-zellig, in der Mitte nicht eingeschnürt, hyalin oder schwach bräunlich, 9—12 μ lang, 4,5 μ breit. Paraphysen fehlen.

Parasitisch in *Parlatoria Zizyphi* Luc. auf *Citrus*-Blättern, Buitenzorg.

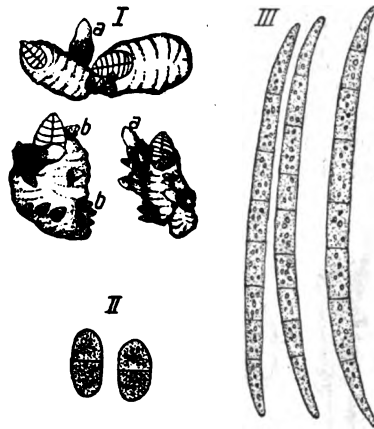


Fig. 1. *Nectria coccidophthora*. I Habitus. a Conidienlager, b Peritheccien. II Ascosporen. III Conidien. I 8mal, II und III 500mal vergr.

1) The Journal of the Linnean Society. Botany. Vol. XIV. 1875. p. 117.

4. *Ophionectria coccicola* (Ell. und Ev.) Berl. und Vogl.

Außer den Peritheciën, die vollständig der mir allein zugänglichen Diagnose von Saccardo¹⁾ entsprechen, beobachtete ich von diesem Pilze auch eine Conidienfruktifikation. Die Conidienlager (Fig. 2, I, a) befinden sich teils zwischen den Peritheciën auf der gleichen Laus, teils auch auf benachbarten, peritheciën-

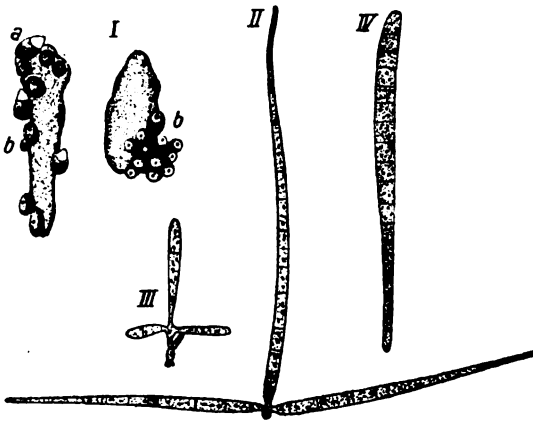


Fig. 2. *Ophionectria coccicola*. I Habitusbild. II reife, III unreife Conidie. IV Ascospore. II und III 180mal, IV 435mal vergr.

freien Läusen. Sie besitzen einen schmutzig-braunen, 0,2 mm langen Stiel. Der aus den konisch zusammenneigenden, nicht von Haaren umgebenen Sporen bestehende Kopf ist schneeweiß. Die Conidienträger sind perlschnurförmig und bilden an der Spitze 3 Conidien (Fig. 2, IV), die sich im Reifestadium zusammen mit dem Endgliede des Trägers lösen (Fig. 2, II). Die

einzelnen Conidien sind am freien Ende lang zugespitzt, vielzellig, hyalin, 200—240 μ lang und 6—7 μ breit.

Bei Buitenzorg auf *Parlatoria Zizyphi* Luc., die auf Blättern einer *Citrus spec.* parasitierte, beobachtet. Bisher war der Pilz nur in Amerika gefunden, aber ebenfalls auf einer auf *Citrus*-Blättern lebenden Coccidie. Es ist wohl nicht unwahrscheinlich, daß der Pilz auf Java importiert ist.

5. *Broomella Ichnaspidis* n. sp.

Stroma (Fig. 3, I) parasitisch in Läusen, diese nur wenig überragend, fleischig, mit Protuberanzen, in denen die Peritheciën angelegt werden, die äußersten Schichten farblos, durchsichtig, die inneren blutrot; dieser Farbstoff, an eine feinkörnige Substanz gebunden, bei längerem Kochen in Chloralhydrat verschwindend. Peritheciën (Fig. 3, II) zu mehreren auf dem gleichen Stroma, gegen dieses scharf abgegrenzt, zur Reifezeit ungefähr zur Hälfte eingesenkt. Auch bei längerem Kochen in Chloralhydrat bleibt die äußerste Partie der Peritheciën der Wandung und namentlich die Mündung dunkelbraun gefärbt. Asci etwas gebogen, 8-sporig,

1) Sylloge. Vol. IX. p. 996.

95–120 μ lang. Sporen (Fig. 3, III) hyalin, im Ascus schwach bräunlich erscheinend, viel- (bis 16-) zellig, fädig, meist etwas gekrümmt, beinah so lang als die Asci, 4–5 μ breit, an dem einen Ende meist etwas dünner als an dem anderen, ein Zerfall der Sporen konnte nicht beobachtet werden.

Auf *Ichnaspis filiformis* auf Blättern von *Elaeis* und *Coffea liberica* bei Buitenzorg.

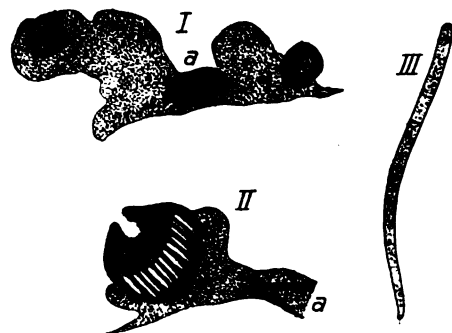


Fig. 3. *Broomella Ichnaspidis*. I und II Durchschnitte durch das Stroma. Bei a Durchschnitt durch die Laus. III Ascospore. I u. II 42mal, III 500mal vergr.

5a. *Broomella Ichnaspidis* var. *major*.

Abweichend durch die größeren, bis 170 μ langen Asci. Sporen bis 155 μ lang, an beiden Enden ungefähr gleich dick.

Auf einer Diaspinee, auf Blättern von *Pierardia* bei Buitenzorg von Dr. Raciborski gesammelt.

6. *Hypocrella Raciborskii* n. sp.

Stroma (Fig. 4, I) frei, scheibenförmig, fleischig, Durchmesser bis 5 mm, weiß oder schwach gelblich, in der Mitte stark verdickt, mit *Aschersonia*-artiger Conidienfruktifikation. Die Conidienkammern (Fig. 4, II b) münden meist seitlich; Conidien einzellig, spindelförmig, fast homogen oder mit stark lichtbrechenden Tröpfchen, 11–13 μ lang, 1,5–2 μ breit; mit sehr langen fadenförmigen Paraphysen. In dem übrigen Teile des Stromas befinden sich zahlreiche Perithezien (50 und mehr). Diese sind ganz eingesenkt; Asci (Fig. 4, III) lang cylindrisch, Vorderende mit schleimartiger Verdickung, 8-sporig, 10 μ breit und 220 μ lang. Sporen fadenförmig, von der Länge der Asci, vielzellig, ca. 2 μ breit. Ein Zerfall der Sporen in die einzelnen Zellen konnte nicht beobachtet werden. Paraphysen fehlen.

Wurde von Dr. Raciborski am Fuß des Merapi in Mittel-

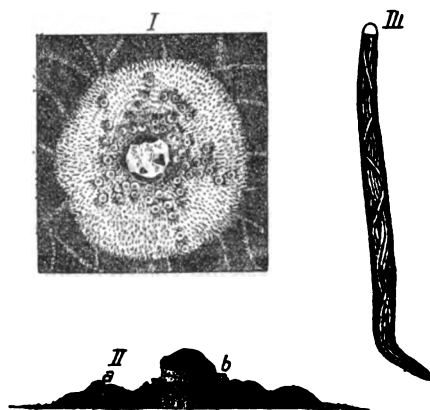


Fig. 4. *Hypocrella Raciborskii*. I Habitusbild. II Medianschnitt durch das Stroma. a Perithecium, b Conidienkammer. III Ascus. I 6mal, II 10mal, III 225mal vergr.

java gefunden, wo sich der Pilz parasitisch auf Citrus-Blättern auf einer Coccidie entwickelt hatte.

7. *Myriangium Duriaei* Mnt. et Berk.

Der Pilz bildet innerhalb und an der Oberfläche der Schildlaus *Ichnaspis filiformis* ein schwarzes, pseudoparenchymatisches Stroma (Fig. 5, I u. II), das sich nur wenig über den Rand der Laus ausbreitet. An der Oberfläche dieses Stromas bilden sich pseudoparenchymatische Protuberanzen, in denen die Asci (Fig. 5, I, b) entstehen und durch Verwitterung der oberflächlichen Schichten frei werden. Die Asci sind eiförmig, 35μ lang, 8-sporig, mit verschleimter Innenmembran. Die farblosen Sporen (Fig. 5, III) sind mauerartig, vielzellig, 25μ lang, 10μ breit und in der Mitte eingeschnürt.

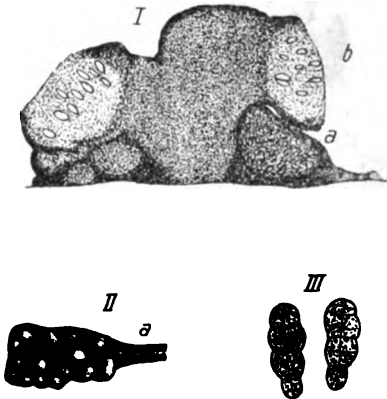


Fig. 5. *Myriangium Duriaei*. I Schnitt durch das Stroma; a Körper der Laus, b Asci. II Habitusbild; a Hinterende der Laus. III Ascosporen. I 50mal, II 10mal, III 520mal vergr.

Auf *Ichnaspis filiformis* Dougl. auf Blättern von *Coffea liberica* und *Elais*, Buitenzorg. Der Pilz ist jedoch nicht an die Gegenwart von Läusen gebunden und dringt vielleicht nur in die Schalen von abgestorbenen Läusen ein.

Zusammenfassende Uebersichten.

Nachdruck verboten.

Die Assimilation des freien, elementaren Stickstoffes.

Zusammenfassende Darstellung nach der einschlägigen Litteratur.

Von Stabsarzt Dr. E. Jacobitz,
kommandiert zum hygienischen Institut der Universität Halle.

(Schluß.)

Von dem zunächst vorgefundenen Gemisch von Bakterien, Hefen und Schimmelpilzen blieben nach 10 Minuten langem Erhitzen auf 75° jedesmal 3 Bacillen übrig, das schon oben erwähnte *Clostridium* und 2 andere sporenbildende, von dem Autor mit α und β bezeichnete. Nur das erstere allein ist imstande, freien Luftstickstoff zu binden. Der Gewinn an demselben betrug z. B. bei 20-tägiger Dauer des Versuches, zu dem 500 ccm oben beschriebener Nährlösung benutzt wurden, in dem einen Falle 28,87 mg, also eine nicht unerhebliche Zunahme! Das Clostri-

dium ist ein $1,2 \mu$ breites und 2—3mal so langes Stäbchen, wächst weder auf Gelatine noch auf Agar noch in Bouillon, wohl aber auf Möhren- und Kartoffelscheiben unter Ausschluß von Sauerstoff. Es bildet hier warzige, gelblich aussehende, nicht über 1 mm im Durchmesser betragende Kolonien. Die beiden Bacillen α und β dienen nach Winogradsky's Forschungen nur dazu, den dritten, an anaërobiotische Lebensbedingungen gebundenen vor Sauerstoffzutritt zu schützen. Sie können in dieser Stelle auch durch andere Mikroorganismen ersetzt werden, vorausgesetzt, daß diese die Eigenschaft besitzen, Sauerstoff energisch an sich zu reißen und sich mit Spuren gebundenen Stickstoffes im Nährmedium zu begnügen. Bacillus α ist ein 2μ breites, obligat aërobes, Bacillus β ein kleines, $0,5 \mu$ breites, fakultativ anaërobes Stäbchen. Beide wachsen auf unseren gewöhnlichen Nährmedien, am besten auf Zusatz von 2,4-proz. Traubenzucker. Das Temperaturoptimum liegt für alle 3 zwischen ca. $18-20^{\circ}$ C. — Schließlich gehört hierher noch ein von dem Rittergutsbesitzer Caron (87) aus der Ackererde seines Gutes Ellenbach isolierter Bacillus der *Bac. ellenbachensis* α oder *Alinitbacillus*, dem die gleiche Eigenschaft und Fähigkeit zugeschrieben wird. Die Ueberlegung, daß Wiesen, die nie gedüngt werden, Jahr für Jahr gute Erträge liefern, daß auch der Waldboden ohne jede Zufuhr von Nährstoffen dauernd neue Pflanzen hervorzubringen und zu erhalten vermag und weiter die in Rothamsted und Halle mit den ungedüngten Versuchspartzen gemachten Erfahrungen brachten Caron zu der Ueberzeugung, daß außer den Knöllchenbakterien der Hülsenfrüchte noch andere bisher unbekannte Quellen im Boden vorhanden sein müßten, die ebenso wie diese zu wirken imstande seien. Berthelot's, Winogradsky's u. A. Untersuchungen führten ihn dazu, diese Ursache in den Bodenmikroben zu suchen. Er stellte deshalb zu verschiedenen Jahreszeiten und nach der Bebauung mit verschiedenen Früchten Erhebungen über den Bestand an Spaltpilzen in der Erde seiner Aecker und Wiesen an. Es ergab sich hierbei, daß die Zahl dieser kleinsten Lebewesen unter Blattfrüchten zunahm, noch mehr aber in der Schwarbrache anwuchs, dagegen wenn Halmfrucht nach Halmfrucht gebaut wurde, am geringsten war. Weiter zeigte sich, daß nicht zu jeder Jahreszeit dieselben Bakterien gefunden wurden, sondern im Frühjahr z. B. andere in den Vordergrund traten als im Herbst, und umgekehrt. Da es sich nun herausstellte, daß besseres Wachstum nach Blattfrüchten und Brache, also auf einem an Mikroorganismen reichen Boden erzielt wurde, so folgerte Caron aus dieser Thatsache, daß wohl unter diesen solche sein müßten, die die Fähigkeit besäßen, den elementaren Stickstoff den Feldpflanzen irgendwie zugänglich zu machen. Er isolierte eine Reihe derselben, machte mit ihnen zunächst Topfversuche und ging, als diese ermutigende Resultate brachten, 1893 auch zu solchen im Acker selbst über. Zu diesen benutzte er Reinkulturen des oben schon erwähnten *Bac. ellenbachensis* α , der bei seinen bisherigen Untersuchungen die günstigste Einwirkung auf das Ge-

deihen der höheren Gewächse ausgeübt hatte. Er erzielte hiermit so guten Erfolg, daß er seit dieser Zeit sein Saatgut mit Alinit infiziert zur Anwendung brachte und seine ganze Wirtschaftsweise auf Grund dieser von ihm gemachten Beobachtungen abweichend von der sonst im allgemeinen üblichen einrichtete. Um die Caron'schen Erfahrungen auch Anderen nutzbar zu machen, wird der von ihm rein dargestellte und zur Düngung benutzte Spaltpilz von den Elberfelder Farbwerken in Sporenform, enthalten in einer aus pflanzlichen Bestandteilen hergestellten pulverigen Masse, für die Anwendung im Großbetriebe in den Handel gebracht. Die mit diesem Material erzielten Resultate sind bisher durchaus widersprechende, so daß erst weitere genauere Versuche und Prüfungen uns über die Brauchbarkeit des Präparates werden Aufschluß geben können. Auch über die morphologischen und biologischen Eigenschaften des Mikroorganismus besteht noch keine Einigkeit und Klarheit. Nach Hartleb und Stutzer (88) ist er ein $1,0-1,2 \mu$ breites und $2,0-3,0 \mu$ langes, aërobes, endogene Sporen bildendes, bewegliches Stäbchen, das einzeln oder auch oft zu zweien hintereinander gelagert und auch zu langen Scheinfäden angeordnet in den künstlichen Kulturen sich vorfindet. Es verflüssigt Gelatine und wächst auf den gewöhnlichen Nährmedien ohne Schwierigkeiten. In Bouillon bildet es anfangs eine leichte Trübung und bald an der Oberfläche ein Kahmhäutchen, das mit zunehmendem Alter sich faltet. Auf der Agarplatte entstehen nach 24 Stunden bei Zimmertemperatur fettig-glänzende, grauweiße Kolonien. Meist haben sie eine runde Form und keinen scharfen Rand. Von diesen wachsen später nach allen Seiten hin Fäden aus, die bei schwacher Vergrößerung als einfache, vielfach hin und her gewundene Fäden mit deutlicher Teilung erscheinen. Die beiden Forscher haben den Alinitbacillus noch auf verschiedenen Nährböden, aber nicht auf der gewöhnlichen Gelatine gezüchtet. Sie sprechen sich ohne nähere Begründung dahin aus, daß der Bac. ellenbachensis α zur Gruppe der Heubacillen gehöre, dem Bac. mycoides oder dem Bac. megatherium nahe stehe und mit dem letzteren den Vorgang bei der Sporenbildung und der Keimung gemeinsam habe. In einer späteren Veröffentlichung (88c), in der Hartleb vergleichende Studien zwischen Bac. ellenbachensis, subtilis und megatherium anstellt, kommt er gleichfalls zu dem Resultate, daß der erstere eine selbständige Art aus der Gruppe der Heubacillen darstelle und weder mit dem einen noch mit dem anderen der beiden mitgeprüften identisch sei. — Lauck (89), der sich ebenfalls mit der Untersuchung des von den Elberfelder Farbwerken in den Handel gebrachten Alinit beschäftigt hat, glaubt sich auf Grund seiner morphologischen Studien zu dem Schlusse berechtigt, daß der Caron'sche Mikroorganismus und der Bac. subtilis Ehrenberg dasselbe seien. Nach ihm ist er ein aërobes, bewegliches, Milzbrandbacillen-ähnliches, ca. 3μ langes und 1μ breites Stäbchen mit abgerundeten Ecken, meist zu zweien, aber auch zu langen Fäden vereinigt. Er wächst schnell auf den gebräuchlichen Nährsubstraten. Die Ge-

latineplatte ist nach 24 Stunden verflüssigt, in der entsprechenden Stiehkultur bildet sich nach 48 Stunden eine trichterförmige Erweichung, in der weiße Flocken erkennbar sind, während sich an der Oberfläche ein dünnes, weißes Häutchen ausbreitet. Auf der Kartoffel bildet er schnell eine grauweiße, pappige, später etwas feucht erscheinende und mehr gelblich aussehende, rasenähnliche Auflagerung. Die Angaben über das Wachstum in Bouillon und auf der Agaragarplatte stimmen im ganzen mit denen von Hartleb und Stutzer überein. Das Entwicklungsoptimum liegt anscheinend bei 30°. Die Sporen sind sehr widerstandsfähig; es gelang nicht, dieselben dadurch abzutöten, daß man sie ca. 3—4 Stunden heißen Wasserdämpfen aussetzte. — Zu einem sowohl von Stutzer und Hartleb als auch von Lauck abweichenden Ergebnis kommt Stoklasa (90) bei seinen Studien über den Alinitbacillus. Er behauptet nämlich, derselbe sei mit *Bac. megatherium* de Bary identisch, und stützt sich dabei hauptsächlich auf die kulturellen Eigenschaften beider Bakterien. Sie sollen beide Stäbchen mit abgerundeten Ecken, im Faden- und Kettenverbande solche mit flachen Enden darstellen, ihre Länge betrage 2,0—3,5, ihre Breite 1,5—2,0 μ . Im Innern sollen unter Umständen 3—5 Septierungen, ferner eine deutliche Differenzierung von Membran, Chromatinkörperchen und Zellsaft-raum zu erkennen sein. Beide zeigen Eigenbewegung und dieselbe Anzahl Geißeln von der gleichen Form. Die Sporen sind vorwiegend cylindrisch, seltener ovoid, kugelig oder pyriform, sind im Durchschnitt 0,9 μ breit und 1,8 μ lang und ihre Bildung erfolgt meist an dem einen Ende. Sie färben sich mit den gewöhnlichen Anilinfarben, aber auch nach der Gram'schen Methode. Gelatine sollen beide gleichmäßig schnell und gleichartig verflüssigen. Die Kulturen auf den verschiedensten Nährmedien, wie Gelatine, Agaragar, Glyceringlukose-Agar oder -Bouillon, Rinderblutserum u. s. w., stimmen in ihrem Aussehen vollständig überein, ebenso bilden beide nach Stoklasa auf Kartoffel einen gelblich-weißen Rasen. Eigentümlich ist beiden ferner die Häutchenbildung in flüssigen Substraten. Lakmusfarbstoff wird reduziert, Milch ohne vorangegangene Koagulierung peptonisiert, auch sollen beide unter Umständen Schwefelwasserstoff entwickeln und schließlich auch zu den gleichen charakteristischen Involutionsformen degenerieren. Nun weichen aber die Angaben über die kulturellen Eigentümlichkeiten des *Bac. megatherium* zum Teil ganz erheblich voneinander ab, zum Teil fehlen sie überhaupt. Stoklasa führt dies auch des näheren in seiner Arbeit aus und fährt dann fort: „Auf Grundlage solcher divergierender Angaben wäre es glatterdings unmöglich gewesen, den *Bac. ellenbachens.* α Caron mit dem *Bac. megatherium* zu vergleichen zu suchen. Es kam uns jedoch der glückliche Umstand zu statten, daß in dem Král'schen Laboratorium eine Kultur des *Bac. megatherium* fortgeführt wird, die es 1888 der Güte des Herrn Geheimrat Robert Koch verdankte; also wahrscheinlich derselbe Stamm, welcher auch zu den diesbezüglichen Untersuchungen von

C. Fraenkel, Itzeroth und Niemann und von Lehmann und Neumann gedient hatte.“ (1) Kolkwitz (91) unternahm es, die hervorgehobenen Differenzen über die Identität des Alinitbacillus zu beseitigen und studierte deshalb besonders die Art der Sporenkeimung. Er spricht sich auf Grund der Beobachtung, daß diese beim *Bac. ellenbachens.* ohne Ausnahme in der Längsrichtung erfolge, dahin aus, daß derselbe zur großen Gruppe des Anthrax und nicht zur Subtilis-Gruppe gehöre. Als Nährboden benutzte er „als möglichst natürlichen“ Regenwurmagar und -bouillon, die er in der Weise herstellte, daß er ca. 40 ccm Regenwürmer in ein Becherglas brachte, dieses in heißes Wasser tauchte, wobei die Regenwürmer sehr bald abstarben, dann die Körper in einer Porzellanschale zerrieb, mit etwa 300 ccm Leitungswasser verdünnte, nicht filtrierte und eventuell 2 Proz. Agar hinzufügte. Krüger und Schneidewind (92) endlich haben zunächst aus 2 Proben des Elberfelder Präparates bei wiederholter Untersuchung und bei Anwendung von Nährsubstraten der verschiedensten Art nur Schimmelpilze gezüchtet. Bei 3 weiteren gleichen Objekten, die einer Prüfung unterzogen wurden, erschienen konstant neben *Penicillium*-Arten 2 verschiedene Bakterien, ein peptonisierendes und ein zweites ohne diese Eigenschaft. Das letztere soll in der Ueberzahl vorhanden gewesen sein. Die beiden Forscher glauben etwaige während der Untersuchung eingetretene Verunreinigungen ausschließen zu können, wenn sie auch nicht zu entscheiden imstande sind, ob die gefundenen Arten dem Präparate selbst eigen sein sollen oder ob die eine oder andere als unerwünschte und unbeabsichtigte Beigabe desselben gelten darf! Außer mit den morphologischen und kulturellen haben sich die meisten der erwähnten Autoren auch mit den biologischen und physiologischen Eigenschaften des Caron'schen Mikroorganismus beschäftigt. Stutzer und Hartleb (88) finden, daß derselbe sich den Fäulnisbakterien ähnlich verhalte, indem die kompliziert zusammengesetzten eiweißartigen Verbindungen durch ihn abgebaut werden. Eine Assimilation freien Stickstoffes haben beide ebensowenig feststellen können wie die Bildung von Nitriten und Nitraten in ihren Kulturen. Sie gingen bei ihren Versuchen etwa so vor, daß sie in ca. 500 ccm fassende Erlenmeyer'sche Kölbchen eine Nährlösung brachten, die in der Regel aus Fleischbrühe bestand, der sie bestimmte Mengen in den einzelnen Fällen verschiedener Stickstoffverbindungen, wie Fleischpepton oder Salpeter u. s. w., zusetzten und sie auch noch durch Hinzufügen von löslichen Kohlehydraten modifizierten. Die Luft wurde mit Hilfe eines Tropfenaspirators durch die Kulturgefäße gesaugt und mußte eine Vorlage mit konzentrierter Schwefelsäure passieren. Hinter den Kolben mit dem infizierten Nährsubstrat war ein weiterer, mit einer bestimmten, abgemessenen Menge einer titrierten Schwefel- oder Salzsäure angefügt, um etwa gebildete flüchtige Stickstoffverbindungen abzufangen. In einem Teil der Untersuchungen wurden die Kolben nur mit einem Wattepfropf verschlossen gehalten und

bei anderen wieder nur eine Vorlage von alkalischem Pyrogallol verwandt.

Zu ähnlichen Resultaten wie die beiden eben Genannten kommt auch Lauck (89): Gekochtes Hühnerweiß in eine mit dem Alinitbacillus infizierte Bouillon gebracht, wird aufgelöst und in Pepton, Amine, Ammoniak und schließlich in freies Nitrogenium umgewandelt; Nitrit- oder Nitratbildung hat er gleichfalls nicht nachweisen können. Stoklasa (90) hat zunächst die Einwirkung des Alinitbacillus auf Salpeterverbindungen geprüft und gefunden, daß diese zuerst in salpetrige reduziert und dann in Ammoniak oder Luftstickstoff übergeführt werden. Er findet weiter, daß die dieses Element enthaltende Substanzen, z. B. Fibrin, durch den Mikroorganismus zersetzt werden, und daß derselbe im Boden selbst diese Fähigkeit auszuüben vermag, und zwar sollen die durch diese Thätigkeit erzielten löslichen Verbindungen von zahlreichen Pflanzen direkt resorbiert werden können. Die Frage nach der Stickstoffbindung hat der Autor in der Weise zu lösen gesucht, daß er in einem Kolben 700 g in Dampf sterilisierten und auf seine Keimfreiheit vorher gezüchteten Lehmboden brachte, diesen mit 98—100 Samen von Gerste, der vorher mit 0,1-proz. Sublimatlösung behandelt und mit Hilfe von Gelatineplatten auf seine Sterilität hin geprüft worden war, beschickte und hierzu 25 ccm einer Aufschwemmung des *Bac. ellenbachensis* setzte, die aus 1 g des Elberfelder Präparates und 250 ccm sterilen Wassers bereitet wurde. Mittels eines Aspirators wurde die Luft täglich 2—3 Stunden durch die Gefäße gesaugt. Als Vorlage diente einmal sterilisierte Baumwolle und sodann Schwefelsäure mit Ferrosulfat. Die Versuche dauerten 38—86 Tage. Die Stickstoffbestimmung geschah vor und nach jedem Versuche 3—4mal mit 20—25 g nach der Methode Kjeldahl-Jodlbauer. Stoklasa stellte so im Durchschnitt auf 1 kg Boden eine Zunahme von 0,076 g Stickstoff fest, vorausgesetzt, daß die Gerste sich gut entwickelt hatte. War dies nicht der Fall oder hatte keine Impfung des Bodens mit Alinit stattgefunden, so blieb die Anreicherung aus. — In einer weiteren Arbeit (93a) hat dann derselbe Forscher diese Versuche etwas abgeändert wiederholt, zum Vergleich auch *Bac. subtilis* mit herangezogen und eine erheblich stärkere Bindung des freien Stickgases durch den Caron'schen als durch den Heubacillus konstatiert. Er hat dann weiter bei seinen Vegetationsversuchen die Beobachtung gemacht, daß die Alinitbakterien (*Bac. megatherium* und *Bac. ellenbachensis* α ?) bei Gegenwart von Algen, und zwar der Species *Stichococcus* und *Nostoc*, diese Fähigkeit in erheblich höherem Grade auszuüben vermögen als beim Nichtvorhandensein derselben. Stoklasa, der wiederholt betont, daß ein hinreichend großer Gehalt des Nährmediums an Kohlehydraten für die Stickstoff assimilierende Wirkung des Alinitbacillus von ausschlaggebender Wichtigkeit sei, giebt einen diesem besonders zusagenden Nährboden an, ein Gemisch von 3 Teilen Xylose und 1 Teil Galaktose mit Zusatz von einer unbedeutenden Menge Pepton. Auf diesem Medium sollen die-

selben ungemein rasch sich vermehren und auch atmosphärisches Nitrogenium assimilieren, und zwar giebt er an, nach 30 Tagen eine Anreicherung dieses Elementes von 180—200 mg auf 100 g infolge Bildung neuer lebender Mikrobenmoleküle gefunden zu haben, jedoch soll diese Bindung aufhören, sobald stickstoffhaltige Körper in dem Nährsubstrate im Ueberschusse vorhanden sind. Die gleichen Versuche mit dem Heubacillus ergaben, daß derselbe sich auf dem oben angegebenen Nährboden nicht so energisch vermehrt und auch nur so geringe Mengen von Luftstickstoff assimiliert, daß dieselben sich in Zahlen nicht mehr ausdrücken lassen. In einem im Februar 1900 in der deutschen Landwirtschafts-Gesellschaft gehaltenen Vortrage (93b) machte Stoklasa die etwas überraschende Mitteilung, daß nach seinen neuesten Beobachtungen der *Bac. ellenbach.*, um den Luftstickstoff „mit gehörigem Effekt“ zu binden, notwendig der Mitwirkung eines von ihm gefundenen, namentlich im Humusboden lebenden Bacillus bedürfe. — Endlich sei hier noch der Verwendung des Elberfelder Präparates in größerem Umfange Erwähnung gethan. Lauck (89b), ferner Krüger und Schneidewind (92) haben bei ihren in kleineren Vegetationsgefäßen und bei den auf Beeten oder größeren Bodenparzellen ausgeführten Düngungsversuchen absolut negative Ergebnisse erzielt, ebenso eine ganze Reihe praktischer Landwirte. Demgegenüber fehlt es aber auch nicht an Mitteilungen über erfolgreiche Impfungen. So berichtet unter anderem z. B. Lutostawski (94) über ein derartiges günstiges Resultat, ferner zählt Stoklasa sowohl in seiner früheren (90) als auch in seiner neuesten, noch nicht vollständig vorliegenden, mit Vitek zusammen veröffentlichten Arbeit (95) eine ganze Reihe von Forschern her, die seine Versuche auch in größerem Maßstabe ausgeführt und bestätigt haben. Auch teilt er hierbei mit, daß bei einer nicht geringen Anzahl von im großen vorgenommenen praktischen Proben mit Hilfe dieses Düngemittels nicht unwesentliche Mehrerträge erzielt worden seien.

Haben wir biher gesehen, daß gewisse Bakterien in engem Zusammenhange mit bestimmten Pflanzen den atmosphärischen Stickstoff zu binden imstande sind, und daß es andererseits aber auch Mikroorganismen giebt, die ohne eine derartige Vereinigung mit Phanerogamen im Boden selbst eine Anreicherung dieses so wichtigen Elementes aus der Luft herbeizuführen vermögen, so hat man endlich noch die Behauptung aufgestellt, daß alle oder wenigstens gewisse grüne Pflanzen an und für sich schon, ohne jede Unterstützung niederster Lebewesen, diese Fähigkeit besäßen. Der eifrigste Vertreter dieses Lehrsatzes ist wohl Frank (49) gewesen. Derselbe hat, trotzdem die seine Ansicht begründenden Versuche (46 u. 49) als nicht einwandfrei erwiesen und vollgiltige Gegenbeweise z. B. von Hellriegel (61), von Wilfarth u. A. erbracht wurden, seine Behauptung stets von neuem zu stützen gesucht und ist nicht müde geworden, dieselbe immer wieder zu verfechten. In seinem Lehrbuch der Botanik (49d) (p. 575) schreibt er: „Die Befähigung elementaren Stickstoff zu assimilieren ist von

mir nachgewiesen worden erstens für gewisse niedere Pilze, zweitens für chlorophyllhaltige Pflanzen, und zwar für niedere einzellige Algen, sowie für Phanerogamen aus verschiedenen natürlichen Familien.“ Die grünen Blätter¹⁾ sollen nach ihm z. B. ein Sitz des Assimilationsvorganges sein. Aber die Beweiskraft seiner hierher gehörigen Untersuchungen erleidet schon von vornherein dadurch eine nicht unbeträchtliche Einbuße, daß er mit nicht sterilem Boden arbeitete, erwähnt er selbst doch wiederholt das Auftreten von Algen in seinen Vegetationsgefäßen. Auch die Versuche Petermann's (96) mit Gerste, die Frank zu seinen Gunsten anruft, ferner die von Bréal (97) mit der Kresse, die von Liebscher (98) mit Hafer und Senf und endlich auch die von Stoklasa (99) angestellten, aber an und für sich schon nicht gerade Vertrauen erweckenden haben alle den oben aufgeführten Satz von der Bindung des freien atmosphärischen Stickstoffes als einer allgemeinen der Pflanzenwelt zukommenden Eigenschaft nur scheinbar bestätigen können und einer genauen sachgemäßen Prüfung nicht standgehalten. Petermann (100) selbst hat in seinen späteren Arbeiten exakt nachgewiesen, daß in einem sterilen Boden die Gerste keinen Stickstoff fixiert. Zu demselben Resultate kommen auch Day (101) u. A. Schloessing und Laurent (102 u. 12) zeigten dasselbe für Hafer, Senf und Kresse, Richter (103) für Senf, Buchweizen und Hafer und Aeby (104), Pfeiffer und Franke (105), Kowerski (106), Lotsy (107) u. s. w. erbrachten den zweifelsfreien Beweis, daß der Senf für sich allein nicht imstande ist, das freie Nitrogenium zu verarbeiten und sich dienstbar zu machen. — Ebenso wie die Behauptung Frank's von der Stickstoffassimilation durch die Nichtleguminosen unter den höheren Pflanzen, so scheint auch die weitere, daß diese Fähigkeit den Algen zukomme, nicht zu Recht zu bestehen. Er selbst hat diese Ansicht in einer Arbeit im Jahre 1888 (46) ausgesprochen und noch näher in einer im folgenden Jahre erschienenen (108) begründet. Die Vegetationsgefäße waren mit Sand gefüllt, dem etwas Mergel zugesetzt wurde. Sie wurden zum Teil sterilisiert, zum Teil unsterilisiert dem Lichte ausgesetzt, ein Teil der letzteren auch im Dunkeln gehalten. Bei den an erster und bei den an letzter Stelle soeben genannten war von einer Entwicklung irgendwelchen Wachstums und von einer Anreicherung von Stickstoff in dem Boden nichts zu bemerken, wohl aber zeigten sich in den unsterilisierten, dem Lichte ausgesetzten Gefäßen Algenvegetation und auch eine Zunahme von Nitrogenium. Da sich außerdem nachweisen ließ, daß diese nicht etwa durch das in kleinen Mengen in der Luft enthaltene Ammoniak zu erklären sei, so kommt Frank zu dem mindestens etwas voreiligen Schlusse, daß diese niederen Pflanzen die Fähigkeit besitzen, „freien atmosphärischen Stickstoff zu vegetabilischen Stickstoffverbindungen zu assimilieren“. Ebenso wollen Schloessing und Laurent durch ihre schon oben erwähnten

1) Siehe p. 842.

Versuche die Bindung des freien Nitrogeniums durch höhere grüne Gewächse zwar ausgeschlossen, für niedere, nämlich Moose und Algen, aber bewiesen haben. Jedoch auch sie verwandten unsterilisierten Boden. Den gleichen Schluß wie die eben genannten Autoren zieht ferner Petermann (100) aus Beobachtungen, die er gelegentlich seiner Untersuchungen über Gerste machen konnte, wo er fand, daß in nicht keimfreiem Boden dann ein Stickstoffgewinn zu verzeichnen war, wenn derselbe sich mit roten und grünen Algen bedeckt hatte. Aus der letzten Zeit sei dann hier noch der Arbeit Richter's (103) Erwähnung gethan, der sich ebenfalls für eine Nitrogenium-bindende Thätigkeit dieser Pflanzen ausspricht, aber bei seinen angeblich beweisenden Untersuchungen die Mitwirkung von Bodenbakterien nicht ausschließt. Eine andere Deutung als die bisher angeführten Forscher haben Gautier und Drouin (109) im Anschluß an Schloessing's und Laurent's Versuche ausgesprochen. Sie kommen zu der Ansicht, daß nicht die Kryptogamen selbst Stickstoff anreicherten, sondern daß diese Fähigkeit anaëroben Mikroorganismen des Bodens innewohne, die aus dem genannten Element Ammoniakverbindungen und Amide machten, die aber schnell ausgewaschen werden würden, wenn nicht Algen und salpetrige- und Salpetersäure bildende Bakterien diese chemischen Körper festhielten und aufspeicherten. Einen exakten Beweis für diese Auffassung sind sie allerdings schuldig geblieben. Bei allen bisher wiedergegebenen Untersuchungen waren, wie schon wiederholt erwähnt, unsterilisierter Boden und höchst wahrscheinlich auch verunreinigte Kulturen benutzt worden. Krüger (110) zeigte nun, daß Reinkulturen zweier niedriger Algen, *Chorella protothecoides* Krüger und *Chlorothecium saccharophilum* Krüger, in Nährlösungen, in denen sie sonst gut gediehen, sich nicht zu entwickeln vermochten, wenn ihnen der Stickstoff in Form zur Aufnahme geeigneter Verbindungen entzogen wurde. Er führte also so einen indirekten Beweis dafür, daß diese Pflanzen atmosphärisches Stickgas nicht zu binden und für sich auszunutzen imstande sind. Kossowitsch und Koch (111) haben zunächst die Frank'schen Versuche nachgeprüft, also mit nicht keimfreiem Boden experimentiert und so dasselbe Resultat wie Jener erhalten. Im Anschluß hieran stellte aber der Erstere gleichartige Versuche (112) mit einwandfreiem Material unter den notwendigen Vorsichtsmaßregeln an und kam nun zu dem entgegengesetzten Ergebnisse. Dasselbe konnten auch Krüger und Schneidewind (84) bestätigen, die die angebliche Assimilationskraft einer ganzen Reihe von Algen einer sorgfältigen und genauen Prüfung unterzogen und hierzu ebenfalls nur sterilen Boden und Reinkulturen verwandten. — Endlich hat man noch von einer anderen niederen Pflanzengattung, nämlich von den Schimmelpilzen, die Eigenschaft, Luftstickstoff fixieren zu können, behauptet und zu beweisen versucht, und zwar Puriewitsch (113) von *Aspergillus niger* und *Penicillium glaucum*. Eine Nachprüfung seiner Arbeit, die mit Vermeidung aller Fehlerquellen

zur Klarstellung dieser wichtigen Frage durchaus wünschenswert ist, habe ich in der mir zugänglichen Litteratur nicht gefunden.

Halle a. S., Juni 1901.

Litteratur.

- 1) Bunge, Lehrbuch der physiol. u. pathol. Chemie. Leipzig 1894.
- 2) Thaer, Rationelle Landwirtschaft. 1. Aufl. 1809. Bd. I.
- 3) Plinius, *Historia naturalis*. Buch 8.
- 4) Jul. Kühn's Berichte aus dem physiologischen Laboratorium und der Versuchsanstalt des landwirtschaftlichen Institutes der Universität Halle. 1895. p. 111.
- 5) Boussingault, Recherches dans le but d'examiner, si les plantes fixent l'azote, qui est à l'état gazeux dans l'atmosphère. (Mém. de chim. agric. et de physiol. Paris 1854.)
- 6) Lawes, Gilbert and Pugh, On the sources of nitrogen etc. (Philosophical Transactions of the Royal Soc. of London. 1861.)
- 7) Ville, Comptes rendus de l'académie de sciences. T. XXXV. 1852. T. XXXVIII. 1854 und T. XLI. 1855.
- 8) Landwirtschaftliche Jahrbücher. 1881. Heft 5 u. 6.
- 9) Schultz-Lupitz, Die Kalidüngung auf leichtem Boden. Berlin (Parey) 1883.
- 10) Hellriegel und Willfarth, Untersuchungen über die Stickstoffnahrung der Gramineen und Leguminosen. (Beilageheft zu der Zeitschrift des Vereins für Rübenzuckerindustrie des Deutschen Reiches. Berlin (Buchdr. der Post) 1888. Nov.
- 11) Hellriegel, Welche Stickstoffquellen stehen der Pflanze zu Gebote? (Tageblatt der 59. Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte in Berlin 1886.)
- 12) Schloessing und Laurent, Recherches sur la fixation de l'azote libre par les plantes. (Annales de l'Institut Pasteur. 1892.)
- 13) Beijerinck, Die Bakterien der Papilionaceenknöllchen. (Botan. Ztg. Bd. XLVI. 1888.)
- 14) Hiltner, Ueber die Bedeutung der Wurzelknöllchen von *Alnus glutinosa* für die Stickstoffernährung dieser Pflanze. (Landwirtschaftliche Versuchsstationen. Bd. XLVI.)
- 15) Ueber einige Wurzelanschwellungen, besonders diejenigen von *Alnus* und der *Elaeagnaceen*. (Untersuchungen aus dem botanischen Institute Tübingen. 1886.)
- 16) Malpighi, Opera omnia 1687. Anatom. plantar. Pars secunda De gallia.
- 17) Wulffen, Karl von, Ueber den Anbau der weißen Lupine im nördlichen Deutschland. Magdeburg 1828.
- 18) Candolle, Prodrômus II. 1825 und Mém. sur la famille des légumineuses. 1825.
- 19) Clos, Ebauche de la rhizotaxie. Paris 1848. Du collet dans les plantes et de la nature de quelques tubercules. (Annal. scienc. natur. Sér. 3. T. XII. 1849.)
- 20) Trevisanus, Ueber die Neigung der Hülsengewächse zur unterirdischen Knollenbildung. (Botan. Ztg. 1853.)
- 21) Kolaczek, Lehrbuch der Botanik. 1856.
- 22) Gasparini, Osservazioni sulla struttura dei tuberculi spongiosi di alcune piante legumin. (Citirt nach Tschirch, Berichte der deutschen botan. Gesellschaft. 1887.)
- 23) Lachmann, Knöllchen an den Wurzeln der Leguminosen. Landwirtschaftliche Mitteilungen. (Zeitschr. d. landwirtsch. Lehranstalt zu Poppelsdorf. 1858.)
- 24) Rautenberg und Kühn, Vegetationsversuche im Sommer 1863. (Landwirtschaftl. Versuchsstationen. Bd. VI. 1864.)
- 25) Woronin, Ueber die bei der Schwarzerle und der gewöhnlichen Gartenlupine auftretenden Wurzelanschwellungen. (Mémoires de l'académie impériale des sciences de St. Pétersbourg. Sér. VII. T. X. 1866. No. 6.)
- 26) Landwirtschaftl. Versuchsstationen. Bd. X. 1868. p. 98. Anmerkung.

- 27) Eriksson, Studier öfver leguminosernas rotknölar. (Acta Univ. Lund. 1874. Referat Botan. Ztg. 1884. p. 332.)
- 28) De Vries, Wachstums-geschichte des roten Klees. (Landwirtschaftl. Jahrbücher. Bd. VI. 1877.)
- 29) Cornu, Etude sur le phylloxera. Paris 1878.
- 30) Prillieux, Sur la nature et sur la cause de la formation des tubercules, qui naissent sur les racines des legumineuses. (Bulletin de la société botan. de France. T. XXVI. 1879.)
- 31) Kny, Zu dem Aufsätze des Herrn Professor B. Frank „Ueber die Parasiten in den Wurzelanschwellungen der Papilionaceen. (Botan. Ztg. 1879. No. 34.)
- 32) Botan. Ztg. 1879. No. 4. p. 57.
- 33) Frank, Ueber die Parasiten in den Wurzelanschwellungen der Papilionaceen. (Botan. Ztg. 1879. No. 24 u. 25.)
- 34) Schindler, Zur Kenntnis der Wurzelknöllchen der Papilionaceen. (Botan. Centralbl. Bd. XVIII. 1884.)
- 35) Brunchhorst, Ueber die Knöllchen an den Leguminosenwurzeln. (Berichte der deutschen botan. Gesellsch. Bd. III. 1885.)
- 36) Frank, Die Stickstofffrage vor, auf und nach der Naturforscherversammlung zu Berlin. (Deutsche landwirtschaftl. Presse. 1886. 4. Dez.)
- 37) — —, Sind die Wurzelanschwellungen der Erle und Elaeagnaceen Pilzgallen? (Berichte d. deutschen botan. Gesellsch. Bd. V. 1887.)
- 38) Schindler, Ueber die biologische Bedeutung der Wurzelknöllchen bei den Papilionaceen. (Journal f. Landwirtsch. Bd. XXXIII. 1885.)
- 39) Tschirch, Beiträge zur Kenntnis der Wurzelknöllchen der Leguminosen. (Berichte d. deutsch. botan. Gesellsch. Bd. VII. 1887.)
- 40) Strecker, Die Bereicherung des Bodens durch den Anbau bereichernder Pflanzen. (Journ. f. Landwirtsch. Bd. XXXIV. 1886.)
- 41) Benecke, Ueber die Knöllchen der Leguminosenwurzeln. (Botan. Centralbl. Bd. XXIX. 1887.)
- 42) Duillemin, Les tubercules radicaux des légumineuses. (Annal. de la science agron. français. et étrang. T. I. 1888.)
- 43) Van Tieghem und Douliot, Origine, structure et nature morphologique des tubercules radicaux des légumineuses. (Bull. de la soc. botan. de France. Bd. XXXV. 1888.)
- 44) Lundstroem, Ueber Mykodomatien an den Wurzeln der Papilionaceen. (Botan. Centralbl. Bd. XXXIII. 1888.)
- 45) Delpino, Osservazioni sopra batteriocecidii e la sorgente d'azoto in una pianta di Galega officinalis. (Estratto dalla Malpighia. Anno II. 1889. Fasc. 9/10.)
- 46) Frank, Untersuchungen über die Ernährung der Pflanze mit Stickstoff und über den Kreislauf desselben in der Landwirtschaft. (Landwirtschaftl. Jahrbücher. Bd. XVII. 1888.) — Zur Kenntnis der Assimilation elementaren Stickstoffes. (Berichte d. deutschen botan. Gesellsch. Bd. VII. 1889.)
- 47) — —, Ueber die Pilzsymbiose der Leguminosen. (Berichte der deutschen botan. Gesellsch. Bd. VII. 1889. Heft 8 und Landwirtschaftl. Jahrbücher. Bd. XIX. 1890.)
- 48) Zinsser, Ueber das Verhalten von Bakterien, insbesondere von Knöllchenbakterien in lebenden pflanzlichen Geweben. [Inaug.-Diss.] Leipzig 1897.
- 49a) Frank, Die unter No. 46 u. 47 aufgeführten Veröffentlichungen; ferner: Inwieweit ist der freie Luftstickstoff für die Ernährung der Pflanzen verwertbar? (Deutsche landwirtschaftl. Presse. 1891. No. 77.)
- 49b) — —, Die Assimilation freien Stickstoffes bei den Pflanzen in ihrer Abhängigkeit von Species, von Ernährungsverhältnissen und Bodenarten. (Landwirtschaftl. Jahrb. Bd. XXI. 1892.)
- 49c) — —, Die Assimilation des freien Stickstoffes durch die Pflanzenwelt. (Botan. Ztg. 1893. Abt. I.)
- 49d) — —, Lehrbuch der Botanik. Bd. I. 1892. p. 575.
- 49e) Frank und Otto, Untersuchungen über Stickstoffassimilation in der Pflanze. (Berichte d. deutschen botan. Gesellsch. Bd. VIII. 1890.)
- 49f) — —, Ueber einige neuere Versuche betreffs der Stickstoffassimilation in der Pflanze. (Deutsche landw. Presse. Bd. XVIII. 1891.)

- 49g) Otto, Die Assimilation des freien Stickstoffes durch die Pflanzen. Zusammenfassendes Referat. (Botan. Centralbl. Bd. XLVII. 1891.)
- 50) Frank, Ueber die auf Verdauung von Pilzen abzielende Symbiose der mit endotrophen Mykorrhizen begabten Pflanzen, sowie der Leguminosen und Erlen. (Berichte d. deutschen botan. Gesellsch. Bd. IX. 1891. No. 7.)
- 51) — —, Lehrbuch der Botanik. Bd. I. 1892. p. 582.
- 52) Prazmowski, Die Wurzelknöllchen der Erbse. (Landwirtsch. Versuchsstationen. Bd. XXXVII u. XXXVIII. 1890.)
- 53) Vergl. No. 13 und Beijerinck, Over ophooping van atmospherische stickstof in Culturen van bacillus radicolica. [Versl. en med. d. k. Akad. van Wetensch. te Amsterdam.] (Naturkunde. 1891.)
- 54) Nobbe und Hiltner, Mitteilungen a. d. pflanzenphysiolog. Versuchsstation Tharand. (Landwirtschaftl. Versuchsstation.)
- 55) Lawes und Gilbert, New experiments on the question of the fixation of free Nitrogen. [Prelim. Notice.] (Proceed. of the Royal Soc. London. Vol. XLVII. 1890.)
- 56) Atwater and Woods, The acquisition of atmospheric nitrogen by plants. (American Chem. Journal. Vol. XIII. 1891.)
- 57) Ward, On the tubercular swellings on the roots of *Vicia faba*. (Philos. Transact. of the Royal Soc. of London. Vol. CLXXVIII. 1887; Referat: Botan. Centralbl. Bd. XXXIV. 1888.)
- 58) Bréal, Expériences sur la culture des légumineuses. (Annal. agronom. T. X. 1889. No. 12.)
- 59) Kossowitsch, Durch welche Organe nehmen die Leguminosen den freien Stickstoff auf? (Botan. Ztg. 1892.)
- 60) Wagner, Stickstoffdüngung der landwirtschaftlichen Kulturpflanzen. Berlin 1892. (Deutsche landwirtsch. Presse. 1893. No. 87—91.)
- 61) Hellriegel, Ueber Stickstoffnahrung landwirtschaftlicher Kulturgewächse. (Bericht auf dem internationalen land- u. forstwissensch. Kongreß zu Wien. 1890.)
- 62) Wilfarth, Ueber die Stickstoffaufnahme der Pflanzen. (Naturforscherversammlung. 1890. Sekt. f. Agrikulturchemie.)
- 63) Gonnermann, Die Bakterien in den Wurzelknöllchen der Leguminosen. (Landwirtsch. Jahrbücher. 1894.)
- 64) Mazé, Les microbes des nodosités des légumineuses. (Annales de l'Institut Pasteur. 1898.)
- 65) Stutzer, Beiträge zur Morphologie der als *Bacterium radicolica* beschriebenen Organismen. (Mitteilungen der landwirtsch. Institute der kgl. Universität Breslau. 1900. Heft 3.)
- 66) Hiltner, Ueber die Bakteroiden der Leguminosenknöllchen und ihre willkürliche Erzeugung außerhalb der Wirtspflanzen. (Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. VI. 1900. No. 9.)
- 67) Morck, Ueber die Formen der Bakteroiden bei den einzelnen Species der Leguminosen. [Inaug.-Diss.] Leipzig 1891.
- 68) Berthelot, Recherches nouvelles sur les microorganismes fixateurs de l'azote. (Compt. rend. de l'acad. Paris. T. CXII. 1893.)
- 69) Mazé, Fixation de l'azote libre par le bacille des nodosités des légumineuses. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XI. 1897.)
- 70) Immendorff, Beiträge zur Lösung der Stickstofffrage. (Landwirtschaftl. Jahrbücher. Bd. XXI. 1892.)
- 71) Kirchner, Die Wurzelknöllchen der Sojabohne. (Beiträge z. Biologie d. Pflanzen. Bd. VII.)
- 72) Beijerinck, Künstliche Infektion von *Vicia faba* mit *Bacill. radicolica*. Ernährungsbedingungen dieser Bakterie. (Botan. Ztg. 1890.)
- 73a) Nobbe, Schmidt, Hiltner, Hotter, Versuche über die Stickstoffassimilation der Leguminosen. (Landwirtsch. Versuchsstationen. Bd. XXXIX. 1891.)
- 73b) Nobbe, Hiltner und Schmid, Versuche über die Biologie der Knöllchenbakterien der Leguminosen, insbesondere über die Frage der Artenheit derselben. (Landwirtsch. Versuchsstationen. Bd. XLV. 1895.)
- 73c) Nobbe und Hiltner, Ueber die Anpassungsfähigkeit der Knöllchenbakterien ungleichen Ursprungs an verschiedene Leguminosengattungen. (Landwirtsch. Versuchsstationen. Bd. XLVII. 1896.)

- 73d) Nobbe, Bodenimpfung mit reinkultivierten Knöllchenbakterien für die Kultur von Leguminosen. (Sitzungsber. u. Abhandlgn. d. naturwissenschaftl. Gesellsch. Isis. Dresden 1897.)
- 73e) — —, Einige neue Beobachtungen, betreffend die Bodenimpfung mit reinkultivierten Wurzelknöllchenbakterien für die Leguminosenkultur. (Verhandl. d. Gesellschaft deutscher Naturforscher u. Aerzte. 68. Versammlg. Teil 2.)
- 73f) Nobbe und Hiltner, Ueber die Dauer der Anpassungsfähigkeit der Knöllchenbakterien an bestimmte Leguminosengattungen. (Landwirtsch. Versuchsstationen. Bd. XLIX.)
- 73g) — —, Wie läßt sich die Wirkung des Nitragins erhöhen? (Landwirtsch. Versuchsstationen. Bd. LI. 1899.)
- 73h) — —, Künstliche Ueberführung der Knöllchenbakterien von Erbsen in solche von Bohnen (Phaseolus). (Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. VI. 1900.)
- 73i) Hiltner, Ueber die Ursachen, welche die Größe, Zahl, Stellung und Wirkung der Wurzelknöllchen der Leguminosen bedingen. (Arbeiten aus der Biol. Abteilung f. Land- u. Forstwirtschaft am Kaiserl. Ges.-Amte. Bd. I. 1900. Heft 2.)
Weiter gehört hierher:
- 73k) Frank, Die bisher erzielten Ergebnisse der Nitraginimpfung. Im Auftrage des preußischen Landwirtschaftsministers mitgeteilt. (Landwirtschaftl. Versuchsstationen. Bd. LI. 1899.)
- 73l) Stutzer, Burri, Maul, Untersuchungen über das Anpassungsvermögen von *Bacillus radicicola* an einen fremden Nährboden. (Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. II. 1896.)
- 74) Die Bodenimpfung für Leguminosen mit reinkultivierten Bakterien. (Reklameschrift der Farbwerke vorm. Meister, Lucius & Brüning in Höchst. 1897.)
- 75) Moeller, Bemerkungen zu Frank's Mitteilungen über den Dimorphismus der Wurzelknöllchen der Erbse. (Berichte d. botan. Gesellsch. 1892.)
- 76) Fischer, Lehrbuch der Bakterien. Kap. 10. 1895.
- 77) Stoklasa, Der gegenwärtige Stand der Nitraginfrage. (Zeitschr. f. d. landwirtsch. Versuchswesen in Oesterr. Bd. I.)
- 78) Naudin, Nouvelles recherches sur les tubercules des légumineuses. (Compt. rend. de l'acad. Paris. T. CXXIII.)
- 79) Gautier et Drouin, Sur la fixation de l'azote atmosphérique par le sol et par les végétaux. (Bull. soc. chim. Paris 1892.)
- 80) Winogradsky, Sur l'assimilation de l'azote gazeux de l'atmosphère par les microbes. (Compt. rend. de l'acad. Paris. T. CXVIII.)
-
- 81) Alpe e Menozzi, Studi e ricerche sulla questione dell' assimilazione dell' azoto per parte delle piante. (Bull. di notizie agrarie del Ministero d'agricoltura, Industria e Commercio 1892. No. 14.)
- 82) Berthelot, a. vergl. unter No. 68 und b. Nouvelles recherches sur les microorganismes du sol fixateurs de l'azote. (Bull. de la soc. chim. de Paris. T. XI.)
- 83a) Nobbe und Hiltner, Vermögen auch Nichtleguminosen freien Stickstoff aufzunehmen? (Landwirtsch. Versuchsstationen Bd. XLV.)
- 83b) Kühn, Die Assimilation des freien Stickstoffs durch Bodenbakterien ohne Symbiose mit Leguminosen. (Sonderabdruck aus Fühling's Landwirt-Ztg. 1901.)
- 84) Krüger und Schneidewind, Sind niedere chlorophyllgrüne Algen imstande, den freien Stickstoff der Atmosphäre zu assimilieren und den Boden an Stickstoff zu bereichern? (Landwirtschaftl. Jahrbücher. 1900. Heft 5.)
- 85) Winogradsky, Recherches sur l'assimilation de l'azote libre de l'atmosphère par les microbes. (Archives des sciences biologiques publiées par l'Institut Impérial de médecine expérimentale à St. Petersburg. T. III. 1895. No. 4.)
- 86) — —, Sur l'assimilation de l'azote gazeux de l'atmosphère par les microbes. (Compt. rend. de l'acad. Paris. T. CXVI. 1893 und ebendort T. CXVIII [vergl. No. 80].)

- 87a) Caron, Landwirtschaftlich-bakteriologische Probleme. (Landwirtsch. Versuchsstationen. Bd. XLV.)
- 87b) — —, Die stickstoffbildenden (?) Bodenbakterien. Vortrag gehalten in der Winterversammlung des Centralausschusses d. kgl. Landwirtschaftsgesellsch. in Hannover 26. Nov. 1896.)
- 87c) — —, Verhandlungen der Winterversammlung 1900 der deutschen Landwirtschaftsgesellschaft zu Berlin. p. 43—79. [Sonderabdruck aus Bd. XV. d. Jahrbuches d. deutsch. Landw.-Gesellsch. Jahrg. 1900.]
- 88a) Hartleb, Ueber Alinit und den Bacillus ellenbachensis alpha. (Botan. Centralbl. Bd. LXXII. 1897. p. 229 u. Originalbericht über die Sitzungen der Sektion 8 der 69. Versammlung deutscher Naturforscher u. Aerzte in Braunschweig.)
- 88b) Stutzer und Hartleb, Untersuchungen über das im Alinit enthaltene Bakterium. (Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. IV. 1898.)
- 88c) Hartleb, Repräsentiert das Alinitbakterium eine selbständige Art? (Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. V. 1899.)
- 89a) Lauck, Welches sind die Bestandteile des als „Alinit“ bezeichneten Impfdüngers für Saatgetreide, welches den Halmfrüchten einen Körnergewichtsmehrertrag bis zu 40 Proz., auch ohne erhebliche Stickstoffzufuhr, verschaffen soll? (Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. IV. 1898.)
- 89b) — —, Wissenschaftliche und praktische Studien über Entstehung und Wirksamkeit der beiden landwirtschaftlichen bakteriologischen Impfdünger „Nitragin“ und „Alinit“ mit besonderer Berücksichtigung des letzteren. (Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. V. 1899.)
- 90) Stoklasa, Biologische Studie über Alinit. (Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. IV. 1898.)
- 91) Kolkwitz, Beiträge zur Kenntnis der Erdbakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. V. 1899.)
- 92) Krüger und Schneidewind, Untersuchungen über Alinit. (Landwirtsch. Jahrbücher. 1899.)
- 93a) Stoklasa, Assimilieren die Alinitbakterien den Luftstickstoff? (Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. V. 1899 u. Bd. VI. 1900.)
- 93b) — —, Neue Probleme in der Bodenimpfung. Vortrag gehalten in der Ausschußsitzung der Düngerabteilung der D. L.-G. (Deutsche Landwirtschaftliche Presse. Jahrg. XXVII. No. 17.)
- 94) Lutosławski, Zwei Versuche mit Alinit. (Deutsche landwirtsch. Presse. Bd. XXV. 1898. No. 87.)
- 95) Stoklasa und Vitek, Die Stickstoffassimilation durch die lebende Bakterienzelle. (Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. VII. 1901.)
-
- 96) Petermann, Contribution à la question de l'azote. (Bulletins de l'acad. royale de Belgique. 1889 u. 1890.)
- 97) Bréal, Bindung des Luftstickstoffs durch Kresse (*Tropaeolum*). (Annal. agronom. T. XVIII.) (Citirt nach Koch's Jahresbericht.)
- 98) Liebscher, Beitrag zur Stickstofffrage. (Journal für Landwirtschaft. Bd. XVI.)
- 99) Stoklasa, Studien über die Assimilation elementaren Stickstoffs durch die Pflanzen. (Landwirtsch. Jahrbücher. 1895. Heft 6.)
- 100) Petermann, Contribution à la question de l'azote. (Bullet. de l'acad. royale de Belgique. T. XXIII. 1893.)
- 101) Day, Ueber die Nichtassimilierung des atmosphärischen Stickstoffs durch keimende Gerste. (Transact. of the Bot. Society of Edinburgh. 1893.) (Citirt nach Koch's Jahresbericht.)
- 102) Schloëssing et Laurent, Sur la fixation de l'azote libre par les plantes. (Compt. rend. de l'acad. Paris. T. CXIII. 1891.)
- 103) Richter, Zur Frage der Stickstoffernährung der Pflanzen. (Landwirtsch. Versuchsstationen. Bd. LI.)
- 104) Aeby, Beitrag zur Frage der Stickstoffernährung der Pflanzen. (Landwirtsch. Versuchsstationen. Bd. XLVI.)
- 105) Pfeiffer und Franke, Beitrag zur Frage der Verwertung elementaren Stickstoffs durch den Senf. (Landwirtsch. Versuchsstationen. Bd. XLVI.)

- 106) v. Kowerski, Der weiße Senf als Stickstoffvermehrter des Bodens. [Inaug. Diss.] Halle 1895.
- 107) Lotsy, A contribution to the investigation of the assimilation of free atmospheric nitrogen by white and black mustard. (Office of Experim. Stations. Bull. No. 18.)
- 108) Frank, Ueber den experimentellen Nachweis der Assimilation freien Stickstoffes durch erdbodenbewohnende Algen. (Berichte der dtsch. botan. Gesellsch. 1889.)
- 109) Gautier et Drouin, Sur la fixation de l'azote par le sol arable. (Compt. rend. de l'acad. Paris. T. CXIII. 1891.)
- 110) Krüger, Beiträge zur Kenntnis niederer Organismen des Saftflusses der Laubbäume. (In Zopf, Beiträge zur Physiologie und Morphologie niederer Organismen. 1894. Heft 4.)
- 111) Koch und Kossowitsch, Ueber die Assimilation von freiem Stickstoff durch Algen. (Botan. Ztg. 1893.)
- 112) Kossowitsch, Untersuchungen über die Frage, ob die Algen freien Stickstoff fixieren. (Botan. Ztg. 1894. Heft 5.)
- 113) Puriewitsch, Ueber die Stickstoffassimilation bei den Schimmelpilzen. (Berichte d. dtsch. botan. Gesellsch. 1895.)

Referate.

Henneberg, W., Hefe fressende Amöben eines Schleimpilzes (*Physarum leucophaeum* Fr.) und Hefe fressende Tieramöben. (Wochenschr. f. Brauerei. Jahrg. XVIII. 1901. No. 12, 13. Mit Abbildungen.)

In Brauereien und deren Laboratorien werden Amöben häufig beobachtet. Verf. stellte fest, daß die auf keimendem Korn (Malz) sich vorfindenden Amöben vielfach keine selbständigen Amöben (Tieramöben), sondern Entwicklungszustände von einem Schleimpilz (*Physarum leucophaeum* Fr.) darstellen. Dieser Schleimpilz konnte in allen seinen Entwicklungsstufen wiederholt auf den zur Untersuchung der Sporenbildung mit Hefe bestrichenen Gipsblöcken und fast stets in den Keimapparaten an den ausgekeimten Getreidekörnern im Laboratorium beobachtet werden. Um die an denselben Stellen sich vorfindenden Tieramöben von den Schleimpilzamöben sicher unterscheiden zu können, bedarf es in manchen Fällen eingehender Kulturversuche. Wie schon früher Lindner von den Tieramöben berichtete, nehmen auch die Schleimpilz-amöben mit Vorliebe Hefezellen in ihren Körper auf. Die Kulturversuche lassen es sehr wahrscheinlich erscheinen, daß die Amöben Stoffe aus den Hefezellen zur Nahrung benutzen. Bisher konnte noch nicht festgestellt werden, ob die längere Zeit von dem Amöbenkörper eingeschlossenen Hefezellen abgetötet sind. Verf. giebt an der Hand einiger Abbildungen eine nähere Beschreibung der Entwicklungsformen dieses Schleimpilzes und der am häufigsten auf Korn beobachteten Tieramöbenart. Von den Kulturversuchen mag nur erwähnt sein, daß die Vermehrungsgeschwindigkeit der Amöben aus isolierten Sporen oder isolierten Amöben längere Zeit im hohlen Objektträger eingehend beobachtet wurde. Es hatten sich z. B. bis zum 5. Tage 43 Amöben aus einer Spore, bis zum

7. Tage 85 aus einer isolierten Amöbe entwickelt. Die von einer einfachen Membran umgebenen encystierten Tieramöben schienen gegen Trockenheit empfindlicher zu sein (nach 1 $\frac{1}{2}$ Jahr abgestorben) als die mehrschichtigen „Dauersporen“ des Schleimpilzes. Es mag noch erwähnt sein, daß an den Stellen des Amobenkorpers, an welchen sich die kontraktile Vakuole entleert, bewegliche Bakterienformen sich in größerer Menge anzusammeln pflegen, um die von der Amöbe ausgeschiedenen Stoffe zur Nahrung zu gebrauchen.
Autorreferat.

Henneberg, W., Variation einer untergärigen Hefe während der Kultur. (Wochenschr. f. Brauerei. Jahrg. XVII. 1900. No. 43. p. 633—634.)

Eine hochvergarende untergärige Hefe (Dortmunder Herkunft) mit völlig normalen Eigenschaften zeigte plötzlich nach 8 Monaten (seit der Isolierung) obergärige Erscheinungen. Diese Hefe war ebenso wie die vielen übrigen Rassen in Pasteur-Kolben nach Entfernung des Bieres und auf Würzelatine aufbewahrt worden. Bisher hatten die auf diese Weise fortgezüchteten Bierhefen ihre Eigenschaften gut bewahrt, so daß die in Rede stehende Hefe unter vielen Hundert Rassen eine interessante Ausnahme bildete. In der Praxis und im Laboratorium hat diese Hefe die neu angenommenen Eigenschaften 16 Monate (bis jetzt) behalten. Bei der Gärung wurde stets ein lose liegender Bodensatz und ein sehr hefiger Schaum gebildet. Im übrigen erwies sich die Hefe durch die Zeit der Sporenbildung, durch die Gestalt der Sproverbande, durch die Flockenbildung bei dem Verreiben mit Wasser und durch die Vergärung der Raffinose als „untergärig“. Um die Hefe wieder zu einer normalen Gärung zu bringen, wurde eine große Zahl Versuche angestellt. Bei sämtlichen 25 aus je einer Zelle stammenden Kulturen waren die obergärigen Erscheinungen vorhanden. Wiederholtes Trennen der Bodensatzhefe von der nach oben gegangenen Hefe, Lüftung während mehrerer hintereinander folgender Gärungen, Züchtung in verdünnten Würzen, in Rohrzuckerlösung ohne und mit Nährsalzen und in Nährlösungen mit verschiedenen Stickstoffverbindungen, sowie Aufbewahren auf festen und in flüssigen Substanzen hatte keinen Einfluß. Die Hefe behielt nach dieser oft hintereinander wiederholten Behandlung ihren scheinbar obergärigen Charakter oder zeigte ihn schon nach der ersten Gärung in Bierwürze wieder. Uebrigens, wie bemerkt sein mag, sind auch bei obergärigen Hefen ofers untergärige Erscheinungen, also glasiger, nicht hefiger Schaum und festliegender Bodensatz, beobachtet. Die am meisten auffallenden Unterscheidungsmerkmale dieser Heferassen variieren also, während die übrigen physiologischen Merkmale, soweit bisher bekannt ist, merkwürdig konstant bleiben.
Autorreferat.

Stewart, F. C. and Blodgett, F. H., A fruit-disease survey of the Hudson Valley in 1899. (Bull. New York Agric. Exp. Sta. 167. p. 273—308. Pl. 1—4.)

Bericht über die Pilzkrankheiten der Obstfrüchte im Hudson-Valley, New York. Die *Venturia inaequalis* (Cke.) Aehn war nicht sehr häufig. *Spaeropsis malorum* (Pk.) dagegen hat viele Bäume auf Bergspitzen vernichtet. *Gymnosporangium* Spp. waren häufig auf *Juniperus*, doch wurden *Roestelia* Spp. auf Aepfelblättern nicht beobachtet. *Puccinia Peckiana* (*Caecoma nitens*) trat sehr schädlich auf *Rubus villosus* und anderen Schwarzbeeren auf, desgleichen *Cylindrosporium Padi* auf den Kirschen, auf denen auch *Plourigtia morbosa* häufig ist, besonders bei den English Morello. Auf *Ribes* wurden *Septoria Ribis*, *Cercospora angulata* und *Gloeosporium Ribis* beobachtet. Cane blight wird durch einen Pilz, welcher nicht fruktifiziert, hervorgerufen. *Sphaerotheca mons-uvae* ist der schädlichste Feind der Stachelbeeren, auf deren Wurzeln auch *Dematophora necatrix?* gefunden wurde. Sie verursacht dieselben Beschädigungen wie auf den Weintrauben, wo derselbe Pilz auch vorkommt. Der schädlichste Feind der Weintraube aber ist *Laestadia Bidwellii*.
L. H. Pammel (Jowa).

Heckel, Ed., Sur le parasitisme du *Ximenia americana*. (Compt. rend. hebd. de l'acad. d. sc. Paris. T. CXXXI. 1900. p. 764—765.)

Eine ähnliche Form des Parasitismus, wie sie seit Planchon für *Osyris alba* bekannt ist, wiederholt sich bei *Ximenia americana*. Die Wurzeln der genannten Pflanze entwickeln Haustorien, die sich in Ermangelung anderen Pflanzenmaterials an Wurzeln, Stengelteilen oder Samenkörnern derselben Art festsetzen können. Von den tropischen Pflanzen, die Verf. mit *Ximenia* gemeinsam kultivierte (*Tamarindus indica*, *Erythroxylon Coca*, *Hura crepitans*, *Ficus laurifolia*, *Chavica officinarum*), wurde nur *Chavica* von den Haustorien der *Ximenia* in Angriff genommen.
Küster (Halle a. S.).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Will, H., Hefewasser zur biologischen Analyse. [Mitteilungen der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München.] (Zeitschr. ges. Brauwesen. Bd. XXIV. 1901. p. 289—291.)

Hefewasser findet in den gärungsphysiologischen Laboratorien eine vielseitige Anwendung, speziell wird dasselbe bei der biologischen Analyse zum Nachweis von Bakterien benutzt. Nach den in der Litteratur vorhandenen Angaben möchte es den Anschein gewinnen, als ob Hefedextrosewasser, neutrales und schwach alkalisches Hefewasser hinsichtlich ihrer Brauchbarkeit für die biologische Analyse gleichwertig seien. Dies ist jedoch nach zahlreichen vergleichenden Beobachtungen nicht der Fall. Im Hefedextrosewasser tritt die Hefe meist zu sehr in den Vordergrund

und werden die etwa vorhandenen lebenden Bakterien entweder völlig unterdrückt oder in den Hintergrund gedrängt. Soweit es sich um „Stäbchenbakterien“ handelt, scheint neutrales Hefewasser vollständig genügend zu sein, um die Gegenwart von lebenden Zellen nachzuweisen. Anders dagegen liegen die Verhältnisse bezüglich des Nachweises von *Sarcina* (im technischen Sinne, also von typischen Sarcinen und von Pediokokken). Nach vergleichenden Beobachtungen entwickeln sich dieselben im neutralen Hefewasser nur in sehr vereinzelt Fällen, während alkalisches Hefewasser meist ein sehr gutes Nährsubstrat für dieselben ist und der Nachweis von lebenden *Sarcina*-Zellen bei Verwendung desselben wohl in den meisten Fällen sicher gelingt, wenn auch zuweilen die Entwicklung nur eine verhältnismäßig geringe ist.

Verf. ist einer Anregung, welche er aus den Mitteilungen von F. Schönefeld über *Sarcina*-Organismen (Wochenschrift für Brauerei. 1898. p. 321) erhielt, gefolgt, und hat Herrn Richard Braun veranlaßt, zur Kontrolle der Reinhefe aus den Propagierungsapparaten bei sehr zahlreichen Untersuchungen neben neutralem Hefewasser auch Hefewasser mit einem Zusatz von Ammoniak zu verwenden. Dabei wurde neutralem, völlig klarem und möglichst absatzlosem Hefewasser (die Bereitung desselben ist angegeben), welches in Freudenreich-Kölbchen in Mengen von 8—10 ccm verteilt ist, kurz vor dem Einimpfen der Probe ein Tropfen Ammoniak von spezifischem Gewicht 0,96 zugesetzt.

Die Resultate, welche bis jetzt erhalten wurden, sind recht befriedigend.

Bei der mikroskopischen Untersuchung ist insbesondere den Bodensätzen in den Kulturen Aufmerksamkeit zuzuwenden.

In ausgedehnter Weise wurden neben anderen Nährlösungen, wie beispielsweise Würze mit einem Zusatz von Alkohol, Bouillon, neutrales Hefewasser u. s. w., Hefewasser mit einem Zusatz von Ammoniak zur biologischen Untersuchung von Brauwasser angewendet. Während Würze mit einem Zusatz von Alkohol und Bouillon sehr bald, ebenso auch neutrales Hefewasser wieder aufgegeben wurde, da sich ein wesentlicher Fortschritt nicht erzielen ließ, behielt Verf. das Hefewasser mit Ammoniak bei und wurden bis jetzt — die Erfahrungen erstrecken sich zur Zeit auf nahezu 100 Wasserproben — brauchbare Resultate gewonnen.

Zuweilen dauert es allerdings mehrere Wochen, bis eine deutliche sichtbare Entwicklung von *Sarcina* erfolgt.

Selbstverständlich soll das ammoniakalische Hefewasser nicht als ein Universalmittel zum Nachweis von *Sarcina* betrachtet werden, jedoch glaubt Verf., daß damit bei der einfachen und bequemen Anwendungsweise desselben für die biologische Untersuchung und Beurteilung von Brauereiwasser ein kleiner Fortschritt gemacht ist.

Ueber einige andere bei der Untersuchung von Brauereiwasser auf bierschädliche Organismen in Anwendung befindliche Nährlösungen ließ sich bis jetzt noch kein abschließendes Urteil gewinnen.

Autorreferat.

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. ARTHUR WÜRZBURG,
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

- Almqvist, E.** och **Troili-Petersson, G.**, Mikroorganismerna i praktiska lifvet. 8°. Stockholm (P. Palmquist) 1901. 3 kr. 75 ö.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

- Buxton, B. H.**, An improved photo-micrographic apparatus. (Journ. of applied microsc. and laborat. methods. 1901. No. 7. p. 1366—1372.)
van't Hoff, H. J., Erhöhung des Schmelzpunktes der Nährgelatine mittels Formalin. [Vorl. Mitteil.] (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXX. 1901. No. 9. p. 368.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

- Bokorny, Th.**, Ein Wort zu der Controverse über die Zymase, ob Protoplasma oder Enzym. (Allg. Brauer- u. Hopfen-Ztg. 1901. No. 195. p. 2285—2286.)
Bretscher, K., Zur Biologie der Regenwürmer. (Biol. Centralbl. 1901. No. 17. p. 538—550.)
Calamida, D., Weitere Untersuchungen über das Gift der Tánien. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXX. 1901. No. 9. p. 374—375.)
Diamare, V., Zur Kenntnis der Vogelceestoden. — Ueber *Paronia Carrinoi* (mihi). (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXX. 1901. No. 9. p. 369—373.)
Fauna Hawaiiensis. Vol. I. Part 3. Hymenoptera parasitica. By **W. H. Ashmead**. 4°. London (C. J. Clay & Sons) 1901. 12 sh.
Fleutiaux, E., Note sur une bruche de l'Afrique occidentale (Col.). (Bullet. de la soc. entomol. de France. 1901. No. 9. p. 181—182.)
Gessard, C., Etudes sur la tyrosinase. (Annal. de l'Institut. Pasteur. 1901. No. 8. p. 593—614.)
Henneberg, W., Zur Kenntnis der Milchsäurebakterien der Brennereimaische, der Milch und des Bieres. [Vorl. Mitteil.] (Wchschr. f. Brauerei. 1901. No. 30. p. 381—384.)
Lambinet, J., Recherches sur la résistance des oeufs et des larves d'ankylostome aux agents physico-chimiques. (Bullet. de l'acad. r. de méd. de Belgique. 1901. No. 5. p. 397—407.)
Lintner, C. J., Ueber die Unterscheidung von Getreide- und untergäriger Bierpreßhefe durch Bestimmung der Gärkraft bei verschiedenen Temperaturen. (Ztschr. f. Spiritusindustrie. 1901. No. 35. p. 359—360.)
Macfadyen, A., Ueber Agglutinieren der Hefe. [Vorl. Mitteil.] (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXX. 1901. No. 9. p. 368.)
Mac Lead Harris, N. and **Longcope, W. T.**, *Micrococcus zymogenes*. Some additional observations upon its occurrence. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXX. 1901. No. 9. p. 353—356.)
Magnus, P., Ueber einige von J. Bornmüller im Jahre 1900 auf den canarischen Inseln gesammelte Uredineen. (Ber. d. dtsh. botan. Gesellsch. 1901. Heft 4. p. 292—300.)
Matruchot, L. et **Dassonville, Ch.**, *Eidamella spinosa*, dermatophyte produisant des périthèces. (Bullet. de la soc. mycol. de France. 1901. Fasc. 2. p. 123—132.)
Miche, H., *Crapulo intrudens*, ein neuer mariner Flagellat. (Ber. d. dtsh. bot. Gesellsch. 1901. Heft 7. p. 434—441.)
Nuttall, G. H. F., The influence of colour upon *Anopheles*. (Brit. med. Journ. 1901. No. 2124. p. 668—669.)
Schaudinn, F., Typus: Protozoa (Urtiere). Klasse: Sporozoa (Sporentiere). Unterklasse: Coccidia (Coccidien). (R. Leuckart's Samml. zool. Wandtaf. üb. wirbellose Tiere, fortges. von C. Chun. I. Taf. 103.) 4 Blatt à 102 × 71 cm Farbdr. Nebst Text. gr. 4°. 3 p. Cassel (Th. G. Fisher & Co.) 1901. 12 M.
Tarchanoff, J., Lumière des bacilles phosphorescents de la mer baltique. (Compt. rend. de l'Acad. d. scienc. T. CXXXIII. 1901. No. 4. p. 246—249.)

- Thomas, P.**, Sur la nutrition azotée de la levure. (Compt. rend. de l'Acad. d. scienc. T. CXXXIII. 1901. No. 5. p. 312—313.)
- Trotter, A.**, Description de deux cynipides nouveaux (Hymén). (Bullet. de la soc. entomol. de France. 1901. No. 9. p. 175—176.)
- Wehmer, C.**, Die Pilzgatung *Aspergillus* in morphologischer, physiologischer und systematischer Beziehung, unter besonderer Berücksichtigung der mitteleuropäischen Species. (Aus: Mémoires de la société de physique et d'histoire naturelle de Genève.) gr. 4°. 159 p. m. 5 (1 farb.) Taf. Basel (Georg & Co.) 1901. 16 M.
- Zaubitzer, H.**, Studien über eine dem Strohinfus entnommene Amöbe. [Inaug.-Diss.] gr. 8°. 45 p. Marburg 1901.

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Milch, Molkerei.

- Park, W. H.**, The great bacterial contamination of the milk of cities. Can it be lessened by the action of health authorities? (Journ. of hygiene. Vol. I. 1901. No. 3. p. 391—406.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

- Thudichum, G.**, Le traitement bactérien des eaux d'égout. 8°. Paris (Béranger) 1901. 2,50 fr.

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

- Brin, F.**, La cochylys. (Rev. de viticult. 1901. No. 373—375, 380. p. 153—158, 179—183, 212—216, 346—351.)
- Britton, W. E.**, Miscellaneous notes on insects and insecticides. (Rep. of the Connecticut agricult. experim. stat. 1900. Part 3. p. 314—322.)
- Bürki, Die Birntrauermücke (Sciara piri).** (Schweiz. Ztschr. f. Obst- u. Weinbau. 1901. No. 9. p. 143—145.)
- Clinton, G. P.**, Two new smuts on *Eriocaulon septangulare*. (Rhodora. 1901. No. 28. p. 79—82.)
- Dach, L.**, Die Bekämpfung der Nonnenraupe. (St. Hubertus. 1901. No. 25. p. 313.)
- Dietrich, F. O.**, Aufruf zur Vertilgung der Fliegen. (Dtsche landwirtschaftl. Presse. 1901. No. 47. p. 418—419.)
- Emslander jun., F.**, Beitrag zur Hederichvertilgung. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. 1901. No. 26. p. 385—387.)
- Eriksson, J.**, Sur l'origine et la propagation de la rouille des céréales par la semence. (Annal. d. scienc. natur. Botan. T. XIV. 1901. No. 1/3. p. 1—124.)
- Eriksson, J. C.**, Comment organiser des travaux internationaux de pathologie végétale? 8°. 11 p. Stockholm 1900.
- Fletcher, J.**, Injurious insects in Ontario during 1900. (31. ann. rep. of the entomol. soc. of Ontario 1900. Toronto 1901. p. 62—72.)
- Friedrich, Welche Schädlinge kommen hauptsächlich am Apfelbaum vor? (Unser Obstgarten. Beil. z. Hannover. land- u. forstwirtschaftl. Ztg. 1901. No. 4. p. 13—15.)**
- Hartig, E.**, *Agaricus melleus*, ein echter Parasit des Ahorns. (Centralbl. f. d. ges. Forstwesen. 1901. Heft 5. p. 193—196.)
- Held, Ph.**, Der Traubenwickler, Heu- und Sauerwurm. (Prakt. Wegweiser, Würzburg, für jede Familie in Stadt und Land. 1901. No. 23. p. 177—178.)
- Hergot, F.**, Ueber einige durch *Cystopus candidus* an Cruciferen hervorgerufene Mißbildungen, welche in der Umgebung von Steyr gefunden wurden. Programm 1900/01 der Realschule in Steyr. 8°. 29 p.
- Jacobi, A.**, Die Bekämpfung der Hamsterplage. (Kaiserl. Gesundh.-A. Biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtsch. Flugbl. No. 10. Sept. 1901.) gr. 8°. 4 p. Berlin (Parey u. Springer) 1901. 0,05 M.
- Jamain, Bellair et Moreau**, La vigne et le vin. 8°. Avec 357 fig. dans le texte et un atlas contenant 19 cartes vinicoles et 16 planch. en couleur. Paris (O. Doin) 1901. 30 fr.
- Jungner, J. R.**, Ueber das Auftreten der Zwergcikade (*Jassus sexnotatus* Fall.) im Mai und Juni dieses Jahres in der Provinz Posen. (Landwirtschaftl. Centralbl., Org. d. Landwirtschaftskammer f. d. Prov. Posen. 1901. No. 25. p. 213—215.)

- Kelhofer, W.**, Zwei neue Peronospora-Bekämpfungsmittel. (Schweiz. Ztschr. f. Obst- u. Weinbau. 1901. No. 10/11. p. 168—172.)
- Kirchner-Neppi**, Le malattie ed i guasti delle piante agrarie coltivate. 8°. Torino 1901. 12 l.
- Klocke**, Zur Bekämpfung der Zwergcikade. (Ztschr. d. Landwirtschaftskammer f. d. Prov. Schlesien. 1901. Heft 23. p. 865—866.)
- Lenert, A.**, Bericht über die Ergebnisse der Bekämpfung des Heu- und Sauerwurmes. (Weinbau u. Weinhandel. 1901. No. 23. p. 265.)
- Loehhead, W.**, Insects in the season of 1900. (31. ann. rep. of the entomol. soc. of Ontario 1900. Toronto 1901. p. 72—75.)
- Marlatt, C. L.**, The principal insect enemies of growing wheat. (U. S. Departm. of Agricult. Farmers' bullet. No. 132.) gr. 8°. 40 p. Washington 1901.
- Moffat, J. A.**, Notes on the season of 1900. (31. ann. rep. of the entomol. soc. of Ontario 1900. Toronto 1901. p. 42—44.)
- Müller-Thurgau, H.**, Wirksamkeit der Spritzmittel bei Bekämpfung einiger Krankheiten der Obstbäume und Reben. (Schweiz. Ztschr. f. Obst- u. Weinbau. 1901. No. 9. p. 138—143.)
- Noel, P.**, Le ver gris (Noctua segetum), moeurs et moyens de destruction. (Naturaliste. 1901. No. 341. p. 117—118.)
- Peglion, V.**, Intorno alla peronospora del frumento, Sclerospora graminicola Schroeter. (Atti d. r. acad. d. Lincei. Rendiconti Ser. 5. Vol. X. 1901. Fasc. 7. p. 262—265.)
- Portele, K.**, Zur Bekämpfung der Peronospora. (Weinlaube. 1901. No. 19, 20. p. 217—221, 229—230.)
- Ribaga, C.**, Insetti nocivi all'olio ed agli agrumi. 8°. 142 p. Portici (Stab. Tip. vesuviano) 1901.
- Ritzema Bos, J.**, Een heksenbezem in een' kastanjeboom. (Tijdschr. over plantenziekt. 1901. Aflev. 2. p. 35—37.)
- , Bestrijding van de bessenwortelluis (Schizoneura Grossulariae Schüle) door bezieinspuitingen in den grond. (Tijdschr. over plantenziekt. 1901. Aflev. 2. p. 37—38.)
- , Rhynchites minutus Herbst (Germanicus Auct.), schadelijk aan aardbeiplanten. (Tijdschr. over plantenziekt. 1901. Aflev. 2. p. 39—41.)
- v. Schilling**, Zum Wicklerkampf. (Prakt. Ratgeber im Obst- u. Gartenbau. 1901. No. 25. p. 237—238.)
- Schilling, K.**, Zur Bekämpfung der Traubenkrankheit (Aescherig, Oidium Tuckeri). (Weinbau- u. Weinhandel. 1901. No. 22. p. 243—244.)
- Schlegel**, Die Bekämpfung des Heuwurmes im Rheingau. (Weinbau u. Weinhandel. 1901. No. 20. p. 221.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

- v. Freudenreich, Ed.**, Ueber einige Versuche mit „Tyrogen“ (Bacillus nobilis Adamez). (Orig.), p. 857.
- Lafar**, Bacillus acidificans longissimus und Bacillus Delbrücki. (Orig.), p. 871.
- Zimmermann, A.**, Einige javanische, auf Coccidien parasitierende Ascomyceten. (Orig.), p. 872.

Zusammenfassende Uebersichten.

- Jacobits, E.**, Die Assimilation des freien, elementaren Stickstoffes. (Orig.) [Schluß], p. 876.

Referate.

- Heckel, Ed.**, Sur le parasitisme du Ximenia americana, p. 892.

Henneberg, W., Hefe fressende Amöben eines Schleimpilzes (Physarum leucophaeum Fr.) und Hefe fressende Tieramöben, p. 890.

—, Variation einer untergärtigen Hefe während der Kultur, p. 891.

Stewart, F. C. and Bloodgett, F. H., A fruit-disease survey of the Hudson Valley in 1899, p. 891.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Will, H., Hefewasser zur biologischen Analyse, p. 892.

Neue Litteratur, p. 894.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Prof. Dr. J. Behrens in Weinsberg i. W.,
Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Dr. v. Freudenreich in Bern, Privatdocent
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Dr. G. Harris Morris
in London, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädenswil, Dr. Erwin F. Smith in
Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr.,
Prof. Dr. Welmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel
und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.
und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VII. Band.

Jena, den 11. Dezember 1901.

No. 25.

Jährlich erscheinen 36 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 20 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Die Bildung von Bakteroiden in künstlichen Nährböden.

Von A. Stutzer.

I. Die Bakteroiden von *Pisum sativum*.

Die Züchtung von Leguminosebakterien (in Form von Stäbchen) geschieht in der Regel unter Benutzung des grünen Krautes der betreffenden Leguminose. Hiltner¹⁾ benutzt Wurzelextrakte

1) Hiltner, Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. VI. 1900. p. 274.

oder wässrige Auszüge aus 6 Wochen alten Keimpflanzen, und gelang es ihm, in dieser Flüssigkeit neben Stäbchen auch Bakteroiden zu beobachten. Ich verwende mit gutem Erfolge die wässrigen Extrakte von den Samen derjenigen Pflanzenarten, in deren Wurzeln die betreffenden zur Impfung zu benutzenden Leguminosebakterien vorkommen.

Meine diesbezüglichen Versuche bezogen sich zunächst auf die Konzentration der zur Anwendung kommenden Nährflüssigkeit sowie auf die etwa erforderliche Zugabe von Mineralstoffen, insbesondere von Kaliumphosphat. Vorgreifend bemerke ich, daß die Konzentration des Samenextraktes einen wesentlichen Einfluß auf die Bildung der Bakteroiden hatte, während eine Zugabe von Kaliumphosphat oder von anderen Mineralstoffen (Salpeter, Magnesiumsalze u. dergl.) ohne Einfluß war.

1. Die Bereitung der Nährlösung aus Erbsensamen.

Erbsen wurden gemahlen und sind hiervon je 10 g mit 1 l destillierten Wassers übergossen und in dieser Flüssigkeit 1 bis 2 Stunden lang, unter Ersatz des inzwischen verdunsteten Wassers, gekocht. Die Flüssigkeit ist filtriert und sind vom Filtrate teils weitere Verdünnungen gemacht, teils wurde durch Eindunsten eine konzentriertere Flüssigkeit hergestellt. Je 10 ccm dieser Extrakte sind in Reagenzgläsern sterilisiert und mit Reinkulturen von Erbsenbakterien geimpft.

Ich stellte 14 verschiedene Lösungen her. Die stärkste enthielt die löslichen Bestandteile von 100 g Erbsen in 1 l Flüssigkeit, die schwächste von 1 g Erbsen und waren die Abstufungen: 75, 50, 40, 30, 20, 10, 5, 4, 3, 2, 1 g.

Die geimpften Kulturen sind in einem auf 25° angewärmten Thermostaten gebracht. Die mikroskopischen Untersuchungen wurden zunächst am 3., 5. und 7. Tage gemacht und sind sie später häufiger wiederholt. In Flüssigkeiten, bei deren Herstellung mehr als 2 Proz. Erbsen verwendet wurden, fand eine schwächere Vermehrung der Organismen wie in dünneren Lösungen statt und war in den ersteren die Zahl der gebildeten verzweigten Formen eine relativ geringe.

Sehr gut war eine Flüssigkeit geeignet, welche die löslichen Bestandteile von nur 1 Proz. Erbsenmehl enthielt, die Bakteroiden traten hier zahlreich auf und die Verzweigungen derselben waren gut ausgebildet. Nach Verlauf von 7 Tagen waren in dieser Flüssigkeit neben dem einfachen Y bisweilen doppelte Verzweigungen zu sehen, indem jeder Gabelast wieder mit einem Y endigte, und hatten solche, allerdings seltener auftretende, Gebilde eine Gesamtlänge von 5—6 μ , bei einer Breite von 0,8 μ . Auch in den Kulturen, welche nicht nur einige Tage, sondern 4—6 Wochen lang im Thermostaten bei 25° gestanden hatten, war die Bakteroidenbildung noch immer eine recht gute. Später waltete die Stäbchenform fast ausschließlich vor, die Vermehrung der Organismen war inzwischen eine sehr starke und die allgemeinen Lebensbedingungen vermutlich ungünstigere geworden.

In den dünneren Lösungen, enthaltend die Bestandteile von 5, 4 und 3 g Erbsenmehl, sah man ebenfalls hin und wieder ganz gute Bakteroiden. In den dünnsten Flüssigkeiten, mit 2 und 1 g Erbsenmehl bereitet, war nur selten ein Bakteroid aufzufinden.

Wiederholt ausgeführte Kontrollversuche bestätigten, daß die besten und die zahlreichsten Bakteroiden in einer neutral reagierenden Flüssigkeit erhalten werden, welche durch Auskochen von 10 g Erbsenmehl mit 1 l Wasser hergestellt wurde.

Durch die Zugabe von 10 g Agar bereitet man hieraus ein gutes Nährsubstrat für Stich- und Strichkulturen.

Weitere Versuche, die ich sogleich anknüpfend erwähnen möchte, beziehen sich auf den Abschluß der Luft. Sowohl in flüssigen Kulturen wie auch in Strichkulturen wurde nach dem Impfen der Zutritt der Luft durch Zuschmelzen des Reagenzrohres ferngehalten. In beiden Fällen blieb die Vermehrung der Organismen im allgemeinen wie auch die Bakteroidenbildung eine wesentlich beschränktere, als bei ungehindertem Zutritt der Luft.

2. Die Wirkung von Säure und von Alkali.

Nachdem durch die vorstehend beschriebenen Versuche die günstigste Konzentration der Nährlösung ermittelt war, suchte ich festzustellen, in welcher Weise eine Zugabe von 0,01—0,05 Proz. Kaliumkarbonat und andererseits ein Zusatz von 0,01—0,05 Proz. freier Citronensäure zu der Nährflüssigkeit auf die Bakteroidenbildung wirkt. Die Versuche ergaben im allgemeinen, daß ein wesentlicher Unterschied in der Wirkung der Säure und des Alkalis nicht hervortrat. Ich glaube bei wiederholten Versuchen bemerkt zu haben, daß ein Gehalt von 0,01—0,03 Proz. Kaliumkarbonat besser wirkte als höhere Gaben von Alkali und als die saueren Flüssigkeiten, jedoch traten die Bakterien bei Gegenwart von 0,01—0,03 Proz. Kaliumkarbonat nicht häufiger auf, wie bei Unterlassung eines jeden Zusatzes von Alkali. Da, wie schon bemerkt, eine Beigabe von Kaliumphosphat ohne Einfluß geblieben war, wie auch ein Zusatz von Salpeter, Magnesiasalzen u. dergl., so liegt kein Anlaß vor, dem Erbsenmehle derartige Zusätze zu geben.

Meine Beobachtungen erstrecken sich auf die Dauer von 3 Monaten. Auch nach dieser langen Zeit waren sowohl in den saueren wie in den alkalischen Flüssigkeiten verzweigte Formen noch vorhanden.

3. Die Größe der Organismen.

In einer Abkochung bereitet aus 10 g Erbsenmehl und 1 l Wasser findet teils eine Vermehrung der Organismen in Stäbchenform durch Zweiteilung statt, teils kommt es zur Bakteroidenbildung. Die Stäbchen haben durchschnittlich eine Länge von 2μ (Schwankungen von $1,5$ — $2,5 \mu$). Die Breite der Organismen ist $0,8 \mu$. Die Bakteroiden haben bei gleicher Breite eine Länge von $2,5$ — 4μ .

Einige Kulturen hatten 3 Monate lang in einem auf 25 — 27°

erwärmten Thermostaten gestanden. Die Flüssigkeit war inzwischen durch Verdunsten der mit Watte verschlossenen Gläser konzentrierter geworden, aber die Formen nahezu unverändert geblieben. Die Stäbchen hatten jetzt durchschnittlich eine Länge von $1,5 \mu$ bei einer Breite von $0,8 \mu$. Demnach stehen sie in der Größe den in den Knöllchen enthaltenen Organismen nicht nach. Morck sagt in seinem Buche „Ueber die Formen der Bakteroiden (p. 30) bezüglich *Pisum sativum*: „Die jüngsten Gewebe der Knöllchen haben kleine Stäbchen von $1-2 \mu$ Länge. Diese wachsen bis zu $3,8 \mu$ aus und gabeln sich stets nur an einem der beiden Enden und zwar oft noch ein zweites Mal.“ In der Form stimmen meine Bakteroiden mit den aus Knöllchen erhaltenen bezw. auch mit den Abbildungen von Morck überein.

Die auf normalem Erbsenagar bei 27° in Form von Strichkulturen gezüchteten Organismen sind zu verschiedenen Zeiten untersucht. In einer 4 Tage alten Kultur hatten die Bakterien eine Länge von $2,5-3,0 \mu$ und eine Breite von $0,6 \mu$. In den flüssigen Kulturen bilden sich beim ruhigen Stehen, namentlich an der Oberfläche, schleimige Massen. Untersucht man diese, so findet man vorzugsweise Stäbchen und nur wenige Bakteroiden. Es tritt also hier eine ähnliche Erscheinung auf, wie nach der Infektion der Leguminosewurzeln im Boden. Dort entwickeln sich zunächst nur Stäbchen, die in einem dicken Schleim eingebettet sind.

Die auf neutralem Erbsenagar bei 27° in Form von Strichkulturen gezüchteten Organismen sind zu verschiedenen Zeiten untersucht. In einer 4 Tage alten Kultur hatten die Stäbchen eine Länge von $2,5-3,0 \mu$, eine Breite von $0,6 \mu$. In 8 Tage alten Strichkulturen schwankte die Länge der Stäbchen von $1-3 \mu$. Bakteroiden kommen in den Strichkulturen auf Agar seltener vor und sind sie hier kleiner als in den Flüssigkeiten. Genau das gleiche Ergebnis erhielt ich bei Verwendung von Agar, der einen Zusatz von $0,5$ Proz. Kaliumkarbonat erhalten hatte.

4. Die Wirkung eines Zusatzes von Kohlehydraten und von Asparagin.

Die Flüssigkeit, welche durch Auskochen von Erbsenmehl mit destilliertem Wasser (Verhältnis $10:1000$) hergestellt war, erhielt Zusätze, um festzustellen, ob die Bildung von Bakteroiden dann noch günstiger sich gestalten würde. Ich verwendete Saccharose, Glukose, Inulin, Stärkemehl und von stickstoffhaltigen Substanzen Asparagin.

a) Glukose. Die Menge des Zusatzes betrug 1 , fünf und 10 Proz. Die Vermehrung der Organismen ist hier wie auch in den Lösungen der anderen Kohlehydrate eine sehr starke. Verzweigte Formen finden sich in allen Glukoselösungen, die meisten in der 1 -proz. Lösung.

b) Saccharose. Die Menge des Zusatzes war: 1 , fünf und 10 Proz. In der 1 -proz. Lösung sind sehr gute und mehr Verzweigungen, als in der entsprechenden Glukoselösung. Auch nach Verlauf von 3 Wochen beobachtete ich in der 1 -proz. Lösung sehr

gute verzweigte Formen, während die stärkeren Lösungen jetzt vorzugsweise die Stäbchenform enthielten.

Eine Lösung, welche $\frac{1}{2}$ Proz. Saccharose enthielt, wirkte ebenfalls vortrefflich auf die Entstehung von Bakteroiden. Deren Länge betrug bis zu 3μ , die Breite $0,7 \mu$.

Weitere Beobachtungen beziehen sich auf Erbsenextraktagar mit Saccharose. Zunächst gab ich 10 Proz. Saccharose hinzu. Ein Teil der Gläschen wurde nach der Impfung zugeschmolzen. Beobachtungsdauer 6 Wochen. In den zugeschmolzenen Röhren bleibt die Entwicklung des Striches dauernd eine schwache. Die Organismen (nur Stäbchen, keine Verzweigungen) sind kleiner als die gleichalterigen, welche in nicht zugeschmolzenen Röhren gewachsen sind. Ihre Länge beträgt $1,5-2 \mu$, die Breite $\frac{3}{4} \mu$. Im nicht zugeschmolzenen Rohre ist deren Länge $2-4 \mu$, die Breite $\frac{3}{4} \mu$. Verzweigungen treten auf diesem Agar selten auf, die vorhandenen sind aber gut ausgebildet. Nach der Färbung mit Karbolfuchsin sieht man in den Stäbchen und in den Bakteroiden das Protoplasma auf einige Punkte zusammengezogen, der größte Teil der Stäbchen bleibt fast ungefärbt.

c. Stärkemehl. Menge des Zusatzes: 2 Proz. Die Organismen vermehren sich stark, aber es bilden sich fast nur Stäbchen von $2-3 \mu$ Länge und $\frac{3}{4} \mu$ Breite. Verzweigungen sind selten und bleiben die Zweige kurz. Die nach Verlauf von mehreren Wochen wiederholten Versuche lieferten das gleiche Ergebnis.

d) Inulin. Menge des Zusatzes: 2 Proz. Die Vermehrung der Organismen ist eine sehr starke, auch entstehen viele und vortrefflich ausgebildete Verzweigungen. Das Inulin wirkt entschieden günstig auf die Bildung von Bakteroiden.

e) Öl. Dem Erbsenextrakt wurde nach dem Einfüllen in die Reagenzgläser eine geringe Menge eines neutralen Oeles beigemischt: Der Zusatz wirkte unvorteilhaft.

f) Asparagin. Die Menge des Zusatzes betrug 2 Proz. Die Organismen bleiben klein, sie haben eine Länge von $1,5-2 \mu$ bei einer Breite von ungefähr $0,6 \mu$. Verzweigte Formen sind nicht zu finden. Asparagin wirkte ungünstig, die Vermehrung der Stäbchen ist eine geringere als nach Zugabe von Kohlehydraten oder nach Unterlassung eines jeden Zusatzes zum Erbsenextrakt.

5. Versuche mit anderen Nährböden.

In einer früheren Mitteilung hatte ich erwähnt, daß verzweigte Formen bei einem aus den Knöllchen von *Vicia Faba* isolierten Mikroorganismus auftreten, wenn demselben Glukose, Asparagin und neutrales Kaliumphosphat mit Zusatz sehr geringer Mengen von organischen Säuren dargeboten wird (oder statt der beiden zuletzt genannten Substanzen saures Kaliumphosphat). (Siehe Mitteilungen d. landw. Institute d. Universität Breslau. Heft 3. p. 64.) Auf das damals gezüchtete interessante Lebewesen komme ich später zurück und möchte zunächst nur das Verhalten der Erbsenbakterien zu den damals benutzten Nährböden mitteilen. 1 l der Flüssigkeit enthielt 10 g Glukose, 2 g Asparagin, 0,5 g Mono-

kaliumphosphat (also ein sauer reagierendes Phosphat) und 0,25 g Magnesiumsulfat.

Die von Agarstrichen übertragenen Erbsenbakterien zeigten keine starke Vermehrung in dieser Flüssigkeit, sie blieben klein. Ihre Länge war 1 bis höchstens 2 μ , deren Breite 0,8 μ . In den ersten Tagen nach der Impfung waren verzweigte Formen gebildet, die betreffenden Organismen hatten eine Länge von 2—3 μ bei einer Breite von 0,8—1,0 μ . Als ich nach Verlauf von 2 Wochen die Kulturen wieder prüfte, war die Zahl der Organismen, im Vergleich zu den Kulturen in Erbsenextrakt von gleichem Alter, eine recht geringe und Verzweigungen konnten nicht mehr aufgefunden werden. Die jetzt benutzte Nährflüssigkeit war demnach für die Erbsenbakterien nicht günstig.

Bei weiteren Versuchen gab ich den Stickstoff in Form von Ammonsalzen. Die zunächst benutzte Lösung enthielt in einem Liter 20 g Saccharose, 1 g Kaliumphosphat, 2 g trockene phosphorsäurere Ammonmagnesia. Die andere Lösung hatte, statt der zuletzt erwähnten Verbindung, 2 g Ammonphosphat, 2 g Magnesiumsalpeter, 0,5 g Citronensäure. In der ersten Lösung blieb die Vermehrung der Organismen eine recht schwache, Verzweigungen kamen nicht vor. In der zweiten Flüssigkeit kamen Bakteroiden vor, aber sie waren viel schlechter ausgebildet als im Erbsenextrakt.

6. Die Wirkung eines Extraktes aus anderen Leguminoseseamen.

Der bisher zu den Strichkulturen benutzte Nähragar enthielt in 1 l die löslichen Anteile von 10 g Erbsenmehl und 10 g Agar. Statt des Erbsenmehles sind nun gleiche Mengen von Kleesamen (*Trifol. hybridum*), von Bohnen (*Vicia Faba*) und von Lupinensamen genommen. Nach Verlauf von 24 Stunden war auf dem Lupinennährboden noch keine Entwicklung zu bemerken, am 3. Tage war sie mäßig, später entwickelten sich die Organismen ebenso gut wie auf Erbsenagar. Der mit Kleeextrakt hergestellte Agar stand dem aus Erbsen bereiteten in keiner Weise nach. Auch Bohnenagar zeigte ungefähr die gleiche Wirkung.

Es sind dann die Entwicklungen der Bakteroiden in wässrigen Extrakten der genannten Leguminoseseamen (ohne Agar) verfolgt und wurden bei je einer Versuchsreihe 20 g, bei einer anderen je 10 g der Samen auf 1 l Wasser genommen.

Ausnahmslos wirkte die schwächere wässrige Lösung auf die Entstehung verzweigter Formen günstiger. Bei diesen Versuchen zeigte das 1-proz. Lupinenextrakt ungefähr die gleiche Wirkung wie das 1-proz. Erbsenextrakt. In den Klee- und Bohnenauszügen ist die Entwicklung weniger gut gewesen. Sodann wurde dem 1-proz. Lupinen- und Erbsenextrakt ein Zusatz von 0,5 Proz. Saccharose gegeben und zwar mit gutem Erfolge. Die Vermehrung der Organismen war eine reichliche und verzweigte Formen traten sehr zahlreich auf.

7. Das Verhalten von Bakterien aus jungen Erbsenknöllchen.

Die bisher benutzten Organismen stammten ursprünglich aus den in Erbsenknöllchen enthaltenen Bakteroiden her. Bekanntlich enthalten die Knöllchen in der jüngeren Vegetationsperiode der Pflanzen unwirksame Stäbchen, aus denen später die verzweigten Formen hervorgehen. In den von mir zu weiteren Versuchen jetzt benutzten Knöllchen waren nur Stäbchen aufzufinden, deren Länge 1–2 μ und deren Breite $\frac{3}{4}$ μ betrug. Diese Stäbchen wurden mit einer Platinnadel steril entnommen, in Erbsenextrakt (10 g : 1 l) übertragen und dieses 8 Tage lang in einen auf 27° erwärmten Thermostaten gestellt. Es hatte eine starke Vermehrung der Organismen stattgefunden, aber verzweigte Formen waren nicht aufzufinden. Leider habe ich diese Kulturen nicht längere Zeit aufgehoben. Aus der Beobachtung scheint hervorzugehen, daß nur die Bakteroidenformen, wie solche in nicht zu jungen Erbsenknöllchen vorhanden sind, zur Bildung verzweigter Formen in künstlichen Nährlösungen Anlaß geben.

Vorgreifend möchte ich bemerken, daß die Stäbchen von *Phaseolus*, welche in den Knöllchen auch dann keine Bakteroiden bilden, wenn die Organismen virulent sind, in künstlichen Nährsubstraten zur Bildung verzweigter Formen gebracht werden können. Ich komme hierauf später zurück.

II. Die Bakteroiden von *Trifolium hybridum*.

Im Anschluß an die Beobachtungen über die Bakteroiden von *Pisum sativum* habe ich weitere Versuche mit den Organismen aus den Knöllchen anderer Leguminosepflanzen gemacht und teile zunächst die Ergebnisse von Untersuchungen mit, welche auf die Bakteroiden von *Trifolium hybridum* sich beziehen. Diese Versuche wurden im Winter eingeleitet, zu einer Zeit, als ich keine frischen Knöllchen zur Verfügung hatte, und verdanke ich die Kulturen, die mir zuerst als Ausgangsmaterial dienten, der Liebenswürdigkeit des Herrn Regierungsrat Hiltner-Berlin, ebenso auch die Kulturen einer Anzahl anderer Leguminosebakterien. Später wurden aus frischen Knöllchen die Organismen von mir isoliert.

1. Die Bereitung einer Nährlösung aus Kleesamen und das Wachstum der Organismen in derselben.

10 g Kleesamen (*Trif. hybridum*) sind mehrere Stunden lang auf dem Wasserbade mit Wasser erwärmt, die nun weichen Samen wurden in einer Reibschale zerrieben und nochmals eine Stunde lang erwärmt. Das Gesamtgewicht der Flüssigkeit ist durch Zugabe von destilliertem Wasser sodann auf 1 kg erhöht. Ein Teil dieser Flüssigkeit wurde durch Eindampfen konzentriert, ein anderer ist mit Wasser verdünnt, so daß in je 1 l die löslichen Bestandteile enthalten waren von 100, 75, 50, 40, 30, 20, 10, 4, 3, 2, 1 g der Kleesamen. Von diesen Flüssigkeiten wurden je 10 ccm

in Reagenzgläser gefüllt, in üblicher Weise ist 3mal sterilisiert und sind die Flüssigkeiten nun mit Bakterien von *Trif. hybridum* (Agarstrichkulturen) geimpft.

Bei Parallelversuchen erhielten die Flüssigkeiten zuvor eine Zugabe von 1 g Bikaliumphosphat für je 1 l Flüssigkeit. Eine auffällige Wirkung des Kaliumphosphates konnte nicht beobachtet werden und scheinen demnach die Kleesamen eine hinreichende Menge von Kali und Phosphorsäure zu besitzen, so daß eine besondere Zugabe dieser Stoffe nicht nötig erscheint. Im Gegenteil hatte es den Anschein, daß speziell bei den Bakteroiden von *Trif. hybridum* die Entstehung verzweigter Formen unter dem Einflusse von Kaliumphosphat verzögert wurde.

Am häufigsten traten verzweigte Formen auf, wenn die Nährlösung die löslichen Substanzen von nur 3—4 g der Kleesamen in 1 l Wasser enthielt.

Eine Zugabe von 0,05 Proz. Kaliumkarbonat oder von 0,05 Proz. Citronensäure zum Kleeextrakt wirkte nicht günstiger als der Kleeauszug ohne weitere Zugaben.

2. Die Kultur der Kleebakterien in Erbsenextrakt, mit und ohne weitere Zusätze zu demselben.

In einem 1-proz. Erbsenextrakt (10 g : 1 l Wasser) vermehrten sich die aus Klee gezüchteten Organismen stark, indes traten die Verzweigungen seltener auf, als im Kleeextrakt. Sodann ist ein Zusatz von 0,05 Proz. Bernsteinsäure zum Erbsenextrakt gegeben, und zwar mit Erfolg. In den ersten Tagen nach der Impfung waren verzweigte Formen zahlreich entstanden. Nach wiederholter Uebertragung in neue Nährlösungen von gleicher Zusammensetzung verminderte sich die Zahl der verzweigten Organismen.

3. Die Verwendung von Lupinensamenextrakt.

Die Kleebakterien wurden in eine Flüssigkeit übertragen, welche durch Auskochen von 10 g Lupinensamenmehl mit 1 l Wasser hergestellt war. Die Organismen vermehrten sich stark und bildeten ungefähr ebenso zahlreiche und gut ausgebildete Verzweigungen wie in dem Kleeextrakt (3 g Kleesamen und 1 l Wasser). Erheblich schlechter wirkte ein aus 20 g Lupinensamenmehl und 1 l Wasser hergestelltes Extrakt auf die Bakteroidenbildung. Hier entstanden fast nur Stäbchen.

Die Zugabe von Saccharose zum Lupinenauszug (10 g Lupinensamenmehl, 5 g Saccharose, 1 l Wasser) wirkte auf die Bildung verzweigter Formen vorteilhaft ein. Die daneben vorhandenen unverzweigten Stäbchen hatten eine Länge bis zu 3 μ , und war es auffallend, daß deren Breite 0,8—1,0 μ betrug.

Agar mit Lupinenextrakt, teils mit, teils ohne Beigabe von 0,05 Proz. Kaliumkarbonat, war ein guter Nährboden, jedoch sind auf dem festen Nährboden die Verzweigungen nur selten zu finden.

Aus den Versuchen geht hervor, daß ein Auszug von Samen des *Trif. hybridum* bei bestimmten Konzentrationen ein guter Nährboden für die Kleebakterien ist, aber es leistete auch ein aus

10 g Lupinenmehl und 1 l Wasser hergestelltes Extrakt gute Dienste. Die Form und die Größe der in diesen künstlichen Nährmedien gezüchteten Klee bakteroiden stimmte stets genau mit den vorhin beschriebenen Erbsenbakteroiden überein, und zeigten diese demnach eine wesentliche Abweichung von denjenigen Gestalten, welche man in den Knöllchen von *Trif. hybridum* findet.

4. Die Wirkung von künstlich gezüchteten Bakteroiden auf die Knöllchenbildung von Leguminosepflanzen.

Die Versuche sind in großen Blumentöpfen ausgeführt. In den unteren Teil der Töpfe wurden Kieselsteine eingelegt, so daß bei allen Versuchen der Topf und die Steine ein Gesamtgewicht von 5 kg hatten. Sodann sind 10 kg eines sterilen Sandes hinzugegeben. Das Sterilisieren wurde durch halbstündiges Erhitzen auf 160° vorgenommen. Der Sand enthielt nur Spuren von Stickstoffverbindungen, nämlich in 1 kg 0,000365 g N. Die 10 kg vermochten 2,1 l einer Nährlösung festzuhalten, die in 1 l enthielt: 0,5 g Monokaliumphosphat, 0,25 g Magnesiumsulfat, 0,10 g Chlorcalcium und Spuren von Eisenchlorid. In den Sand sind Samen, teils von *Trif. hybridum*, teils von *Pisum sativum*, ausgesät, welche Samen zuvor einige Stunden lang in eine Flüssigkeit gelegt waren, die künstlich gezüchtete Bakteroiden enthielt.

Nach der Keimung der Pflanzen ließ ich nur die kräftigsten Exemplare stehen, die schwächeren wurden beseitigt. Durch Zugabe von destilliertem Wasser ist später der Wassergehalt des Sandes auf 60 Proz. der wasserfassenden Kraft desselben gehalten.

Hin und wieder wurde zum Begießen statt des Wassers die Nährstofflösung von der oben angegebenen Zusammensetzung benutzt. Die Aussaat der Samen geschah am 21. Mai, die Herausnahme der Pflanzen aus dem Boden am 25. und 26. Juli. Während der ganzen Zeit sind die Pflanzen der Einwirkung der freien Luft ausgesetzt, sie wurden also nicht in besonderen Glashäusern kultiviert und konnten sich normal entwickeln, sofern die Art der übertragenden Bakterien dies gestattete.

a) Erbsenbakteroiden auf Erbsen übertragen.

Nach der 2-monatlichen Vegetationsdauer sind äußerst zahlreiche, einzeln sitzende Knöllchen an den obersten Wurzeln vorhanden. Die Knöllchen sind nicht zu traubenförmigen Verbänden vereinigt. Beim Ausschlämmen aus dem Boden ist es nicht möglich, alle feinen Wurzeln ohne Verlust zu erhalten, es wird daher nur das Gewicht der frischen oberirdischen Pflanzenmasse ermittelt. Das Gewicht von 10 Pflanzen war 227 g.

b) Erbsenbakteroiden, auf *Trif. hybridum* übertragen.

Die aus den Knöllchen von *Trif. hybridum* herstammenden Organismen waren ungefähr 2 Monate lang teils auf Erbsenagar,

teils in flüssigem 1-proz. Erbsenextrakt von der früher angegebenen Herstellungsweise kultiviert. Namentlich in der Flüssigkeit waren zahlreiche verzweigte Formen enthalten. Mit einer solchen Flüssigkeit sind die Samen von *Pisum sativum* imprägniert. Die Entwicklung der Pflanzen war eine normale, nach 2 Monaten ist die Blüte größtenteils beendet und Schoten sind angesetzt.

Die Zeichen eines ausgeprägten Stickstoffhungers sind nicht beobachtet, allerdings blieben die Pflanzen ein wenig im Vergleich zu den vorigen zurück. Nach 2 Monaten sind die Wurzeln aus dem Boden herausgeschlämmt und enthielten die oberen Wurzeln nur sehr wenige Knöllchen, meist waren diese an den mittleren und auch an den unteren Wurzeln vorhanden. Fast immer sind die Knöllchen zu traubenförmigen Verbänden zusammengelagert, selten einzeln. Die Gesamtzahl der Knöllchen war eine wesentlich geringere als bei den Erbsen, die mit Erbsenbakterien geimpft waren.

In den Knöllchen waren die Stäbchen vorherrschend, diese hatten eine Länge von 1—2,5 μ bei einer Breite von 0,7—0,8 μ . Die daneben vorkommenden Bakteroiden haben die Gestalt von den in Erbsenknöllchen enthaltenen Bakteroiden, jedoch sind die Zweige nur kurz. Doppelverzweigungen, wie solche in den vorhin unter a) erwähnten Knöllchen oft sich fanden, sind hier nicht zu sehen.

Das Gewicht der oberirdischen grünen Pflanzenteile von 10 Pflanzen betrug 214 g.

c) Kleebakteroiden auf Klee übertragen (*Trif. hybridum*).

Nach 2-monatlicher Kultur haben alle Pflanzen an den Wurzeln, namentlich auch an den oberen Wurzeln, zahlreiche Knöllchen, in denen ausschließlich die für diese Kleeart charakteristischen Bakteroiden vorkommen. Die unter II.3 erwähnten Formen sind in den Knöllchen nicht vorhanden. Die oberirdischen Teile von 12 Pflanzen hatten im frischen Zustande ein Gewicht von 21,7 g.

d) Erbsenbakteroiden auf *Trifol. hybrid.* übertragen.

Die ursprünglich aus den Knöllchen von *Pisum sativum* herstammenden Organismen sind 2 Monate lang teils auf Kleeagar, teils in einer wässrigen Abkochung von Kleesamen (3 g Samen von *Trifol. hybr.* zu 1 l Wasser) kultiviert und wurden sie nun mit der zuletzt erwähnten Flüssigkeit auf *Trifol. hybrid.* übertragen.

Die Kleepflanzen standen während der 2-monatlichen Beobachtungsdauer den unter c) erwähnten kaum nach. Das Erntegewicht der oberirdischen Teile von 12 Pflanzen war 21,1 g. Die Zahl der Knöllchen an den Wurzeln ist geringer als bei den unter c) erwähnten Pflanzen, und zwar finden sich die Knöllchen fast nur an den unteren Wurzeln in dicken, traubenförmigen Verbänden zusammenhängend. Die Form der Bakteroiden stimmt genau mit den charakteristischen Gestalten überein, wie sie sonst in den Knöllchen von *Trif. hybr.*

vorkommen, eine Ähnlichkeit mit Erbsenbakterien ist nirgends vorhanden.

Ich möchte unterlassen, aus diesen Kulturversuchen weitergehende Schlüsse zu ziehen, es müssen die Versuche im nächsten Jahre kontrolliert werden. Auch ist festzustellen, ob z. B. die Kleebakterien, wenn solche auf bestimmten Nährböden nur in Stäbchenform fortgezüchtet werden, im folgenden Jahre den Erbsen ebenso nutzbringend sich erweisen, wie bei den beschriebenen Versuchen die künstlich gezüchteten Kleebakteroiden. Ich halte es für nicht ausgeschlossen, daß hier Verschiedenheiten sich bemerkbar machen werden.

Eine wichtige Frage ist die Steigerung der Virulenz bei Knöllchenbakterien derselben Art, unter Benutzung derjenigen Leguminoseart, der die Bakteroiden ursprünglich entnommen wurden.

Vielleicht wird die Virulenz dieser Organismen sich steigern lassen, wenn man diese in der Zwischenzeit zwischen zwei Vegetationsperioden der Leguminosepflanzen in Nährböden züchtet, in denen sie verzweigte Formen bilden. Ob andererseits die Virulenz vielleicht abnehmen wird, wenn die Beschaffenheit des Nährbodens nur die Vermehrung in Form von Stäbchen gestattet, würde ebenfalls durch Versuche zu prüfen sein.

III. Die Bakteroiden von *Trifolium pratense* und *incarnatum*.

Die in den Knöllchen dieser beiden Kleearten enthaltenen Bakteroiden unterscheiden sich in der Form nicht unwesentlich voneinander. Ich war überrascht, in den künstlichen Nährböden die Entwicklung der gleichen Formen (nach Uebertragung zweifelloser Reinkulturen der Organismen von *Trifol. pratense* und *incarnatum*) zu beobachten, wie ich solche für *Pisum sativum* und *Trifol. hybridum* beschrieben habe.

Man sollte fast glauben, daß man auf diese Weise zu einer in morphologischer Hinsicht „neutralen“ Form der Bakteroiden gelangen kann.

Zunächst benutzte ich als Nährmedium Erbsenextrakt (10 g Erbsen, 1 l Wasser). Nach Verlauf von 3 Tagen hatte eine starke Vermehrung stattgefunden und waren verzweigte Formen zahlreich vorhanden. In Lupinenextrakt mit Zucker (10 g Lupinensamenmehl, 5 g Saccharose, 1 l Wasser) entstanden nach der Impfung ebenfalls viele verzweigte Formen. Die daneben vorhandenen Stäbchen hatten eine Länge von 1,5–3,0 μ bei einer Breite von 0,8 μ . Indes scheint die Zugabe von Zucker nicht von Bedeutung zu sein. Ebenfalls auch nicht ein Zusatz von Alkali, wie besondere Versuche ergaben.

Sodann wurde ein Agarnährboden bereitet aus 10 g Agar, 10 g Lupinensamen, 1 l Wasser. In einem Falle ist außerdem eine Zugabe von 0,05 Proz. Kaliumkarbonat gemacht. Die Größe der Stäbchen war auf neutralem Nährboden: Länge 1,5–2,5 μ , Breite 0,5 μ . Auf alkalischem Nährboden: Länge 1,5–3,0, Breite 0,6 μ . Verzweigte Formen waren auf Agarstrichkulturen selten zu beob-

achten. Die angegebenen Größenverhältnisse beziehen sich auf die Organismen von *Trifol. pratense*.

Bezüglich der Organismen aus den Knöllchen von *Trifol. incarnatum* bemerke ich, daß sehr gute Bakteroiden in gezuckertem Lupinenextrakt entstanden (10 g Lupinensamen, 5 g Saccharose, 1 l Wasser). Ohne Zusatz von Zucker habe ich in diesem Falle keine Versuche gemacht. Die Organismen waren bis zu 3 μ lang und 0,8 μ breit. Doppelte Verzweigungen, bei denen das Y nochmals verzweigt war, wurden oft beobachtet.

Auf alkalischem Lupinenagar war die Breite der Organismen 0,8 μ , auf neutralem 0,6 μ .

IV. Die Bakteroiden von *Vicia Faba*.

Die Herstellung eines wässerigen Extraktes aus den gemahlene Samen von *Vicia Faba* geschah in derselben Weise, wie die Bereitung von Erbsenextrakt. Die Flüssigkeiten, welche in 1 l die löslichen Bestandteile von mehr als 30 g der Samen enthielten, waren zu den Kulturen unbrauchbar. Die Vermehrung der Organismen war dann eine äußerst dürftige, sie waren dick, aufgetrieben, degeneriert. In dem aus 40 g Samen und 1 l Wasser bereiteten Extrakte sah man hin und wieder einige unförmige Massen, bei noch höherer Konzentration fand eine Vermehrung der Organismen nicht mehr statt.

Die besten verzweigten Formen bildeten sich in einer Flüssigkeit, zu deren Herstellung 2,5 g Samenpulver und 1 l Wasser gedient hatte. Eine Zugabe von 1 g Bikaliumphosphat zu den Bohnenextrakten war ohne Einfluß. Desgleichen hatten Zusätze geringerer Mengen von Salpeter keinen besonders günstigen Erfolg.

Statt des Bohnenextraktes verwendete ich sodann Erbsenextrakt (10 g Erbsenmehl und 1 l Wasser). Die Vermehrung der Organismen und die Verzweigung derselben war hier eine ebenso günstige wie in dem Bohnenextrakt. Auch in einer Kultur, die 2 Monate lang im Thermostaten gestanden hatte, sind zahlreiche Bakteroiden vorhanden, welche Thatsache für die gute Beschaffenheit des Nährbodens spricht.

Weitere Versuche bezogen sich auf die Zugabe steigender Mengen von Citronensäure bzw. von Kaliumkarbonat (0,05—0,01 Proz.). — Es konnte weder ein günstiger, noch ein ungünstiger Einfluß der Säure oder des Alkalis auf die Formen der Organismen ermittelt werden. Die durchschnittliche Größe der Stäbchen war 2—3 μ , die Breite derselben 3 μ . Die Bakteroiden waren bis zu 4 μ lang und hatten die einfache Gabelform, wie bei den in künstlichen Nährmedien erhaltenen Bakteroiden von *Pisum sativum* und der verschiedenen Arten von *Trifolium*. Hin und wieder war an den Stäbchen ein nur kurzer Seitenast getrieben.

Statt des Erbsenextraktes sind auch Auszüge von Lupinensamen verwendet, mit und ohne Zugabe von Zucker. Recht gute Verzweigungen beobachte ich in einer Nährflüssigkeit, die hergestellt war aus 10 g Lupinensamen, 5 g Saccharose, 1 l Wasser. Durchschnittlich waren die Organismen 3 μ lang und 0,8 μ breit.

Doppelte Verzweigungen sind in dieser Nährflüssigkeit nicht selten anzutreffen.

Beobachtungen auf Agar.

Der vorhin erwähnte Bohnenauszug wurde durch Zugabe von 1 Proz. Agar fest gemacht. Sowohl auf diesem Nährboden, wie auch auf einem solchen, der aus Agar mit einer Abkochung von Lupinen hergestellt war (10 g Agar, 10 g Lupinensamen, 1 l Wasser) vermehrten die Organismen sich recht gut. Desgleichen auf schwach alkalisch reagierendem Agar. Die auf neutralem Agar gewachsenen Organismen hatten eine Länge von 1,5—4 μ , eine Breite von 0,5 μ .

Die vorhin beschriebenen Versuche mit Bakterien von *Vicia Faba* in flüssigen Nährmedien sind teilweise mit Kulturen von verschiedener Herkunft ausgeführt. Stets machte ich die Beobachtung, daß die von einem anderen Institute mir gütigst überlassenen Organismen in viel geringerem Maße zur Bildung verzweigter Formen geneigt waren. Auf eine Anfrage über die Herkunft der Bakterien wurde mir mitgeteilt, daß dieselben schon mehrere Jahre lang auf Gelatinenährboden fortgezüchtet gewesen seien. Die bei den Parallelversuchen verwendeten Organismen hatte ich selbst im letzten Herbst aus den Knöllchen von *Vicia Faba* gezüchtet.

Wenn nicht andere Zufälligkeiten vorlagen, halte ich es für wahrscheinlich, daß die mehrere Jahre lang in Form von Stäbchen kultivierten Organismen allmählich weniger geeignet wurden, verzweigte Formen hervorzubringen. Die Sache muß aber noch weiter verfolgt werden.

V. Die Bakteroiden von *Vicia sativa* und *villosa*.

Als flüssiger Nährboden wurde Lupinenextrakt mit Zucker verwendet (10 g Lupinen, 5 g Zucker, 1 l Wasser). Die geimpfte Flüssigkeit enthielt zahlreiche verzweigte Organismen, zum Teil sogar doppelt verzweigte. Daneben Stäbchen, welche durchschnittlich 3 μ lang und 0,8 μ breit waren. Die verzweigten Formen hatten bei gleicher Breite, wie angegeben, eine Länge von 3—4 μ .

Weitere Versuche bezogen sich auf Agarnährböden, und zwar wurde Lupinenagar verwendet. Auf dem mit 0,05 Proz. Kaliumkarbonat alkalisch gemachten Agar kamen nur selten verzweigte Formen vor, die Stäbchen hatten eine Länge von 1,5—3 μ bei einer Breite von 0,8 μ . Auf sauerem Lupinenagar sind die Formen etwas kleiner, nämlich 1—2,5 μ lang und 0,5 μ breit. Das Alkali hatte demnach günstiger gewirkt.

Die Form und die Größe der aus *Vicia villosa* und *sativa* in künstlichen Nährmedien erhaltenen Bakteroiden stimmte genau mit denjenigen Formen überein, welche ich als Erbsenbakteroiden und als Klee-bakteroiden vorhin beschrieben habe.

VI. Die Bakteroiden von *Phaseolus vulgaris*.

In den Knöllchen von *Phaseolus* sind bekanntlich zur Zeit der Stickstoffassimilation nur Stäbchen zu finden und keine ver-

zweiten Formen. Aus den Knöllchen einer verhältnismäßig noch jungen Pflanze stellte ich auf Agar Reinkulturen der Bakterien her und übertrug diese in Lupinenextrakt mit Zucker (10 g Lupinensamen, 5 g Zucker, 1 l Wasser). Die Organismen vermehrten sich stark, sie hatten eine Länge von 2—3 μ bei einer Breite von 0,7 μ . Ich war überrascht, in den Flüssigkeiten neben den Stäbchen auch verzweigte Formen zu finden, von derselben Form und Größe, wie ich sie für die Erbsenbakteroiden beschrieben habe. Allerdings kamen die verzweigten Formen nicht häufig vor, und nach Verlauf von 8 Tagen waren sie in der Nährflüssigkeit nicht mehr vorhanden. Auf alkalischem und auf neutralem Lupinenagar vermehrten sich die Bakterien sehr schnell, sie hatten eine Breite von 0,5—0,7 μ bei einer Länge von 1,5—3 μ . Bakteroiden habe ich auf Agarstrichkulturen nicht gefunden.

VII. Die Bakteroiden der Lupine (*Lupinus luteus* und *angustif*).

Zunächst erwähne ich ältere, von mir ausgeführte Versuche aus dem Jahre 1899. Damals verwendete ich keine Extrakte von Samen als Nährmaterial, sondern Flüssigkeiten, welche als Kohlehydrat Glukose, als stickstoffhaltige Substanz Asparagin oder Pepton enthielt, ferner wurde Kaliumphosphat und Magnesiumsulfat und in der Regel außerdem geringe Mengen einer organischen Säure gegeben. Die damals sehr zahlreich ausgeführten Versuche lieferten im allgemeinen ein zufriedenstellendes Ergebnis, indem in den mit Aepfelsäure oder mit Citronensäure, Weinsäure, Bernsteinsäure oder durch Monokaliumphosphat schwach sauer gemachten Flüssigkeiten nach der Impfung mit Lupinenbakterien gut verzweigte Formen sich entwickelten, aber diese Formen waren, namentlich bezüglich ihres Dickendurchmessers, nicht gleichartig gestaltet.

In Flüssigkeiten, die nur minimale Mengen von Aepfelsäure (neben Glukose, Pepton und Mineralsalzen) enthielten, traten verzweigte Formen auf, die eine Länge von 2—3 μ und einen Durchmesser von 0,5—0,6 μ hatten. Betrug die Menge der organischen Säuren, welche hinzugesetzt waren, 0,75—1,0 g für 1 l Flüssigkeit, oder war eine gleiche Menge des sauer reagierenden Monokaliumphosphates gegeben, so stieg der Durchmesser auf 0,8—1,0 μ , hin und wieder sogar auf 2 μ . Es entstanden unregelmäßige, buckelförmige Gestalten, wie solche schon früher von Morck in den Knöllchen von *Lupinus* hin und wieder nachgewiesen wurden. (Siehe Morck, Die Formen der Bakteroiden. p. 35. Taf. 2 u. 3.)

Zweifellos sind in den damals von mir benutzten saueren Nährmedien Bakteroiden gebildet, aber zum Teil trugen diese den Charakter der Degeneration.

Ich setzte jetzt die Versuche mit Lupinenbakterien unter Benutzung von Samenextrakten fort. Die verwendeten Lösungen enthielten die löslichen Bestandteile von 1—100 g Lupinensamenmehl für je 1 l Wasser in zahlreichen Abstufungen. Am günstigsten wirkte die Flüssigkeit, welche die löslichen Anteile von 10 g Lupinensamenmehl enthielt, und wird diese Flüssigkeit nachstehend

als 1-proz. bezeichnet. Die Organismen waren in diesem Nährmedium durchschnittlich $1,5-2,5 \mu$ lang und $0,4-0,5 \mu$ breit. Verzweigte Formen kommen hin und wieder vor und hatten diese genau die gleiche Grundform, wie die in Nährflüssigkeiten erzeugten Bakteroiden von *Pisum*, *Phaseolus*, *Trifolium*, *Vicia*, aber sie waren wesentlich kleiner und dünner.

In einem 2-proz. Lupinenextrakte fand ebenfalls eine gute Verzweigung statt. Demnächst folgte in der Wirkung die $\frac{1}{2}$ -proz. Lösung. Die stärkeren Verdünnungen wirkten nicht vorteilhaft ein, die Vermehrung der Organismen pflegte in den dünnen Lösungen eine schwächere zu sein, und hatten sie hier eine Länge von nur $1-2 \mu$.

Waren zur Herstellung der Flüssigkeit mehr als 20 g Lupinenmehl für 1 l Wasser verwendet, so war die Entwicklung der Organismen schlecht und müssen bestimmte Konzentrationen unbedingt eingehalten werden, wenn man eine starke Vermehrung der Organismen und die Entstehung verzweigter Formen erzielen will.

Die in 1-proz. Lupinenextrakt gezüchteten Organismen hatten, nach wiederholter Uebertragung in den Nährboden von gleicher Zusammensetzung, einen größeren Querdurchmesser erhalten, und dürfte es von Interesse sein, durch weitere Versuche festzustellen, ob die Lupinenbakterien nach häufigerer Uebertragung schließlich die Größe der Erbsen- oder Wickenbakterien bzw. Bakteroiden annehmen können.

Von günstigem Einfluß auf die Entstehung verzweigter Formen war die Zugabe von 0,5 Proz. Saccharose zum Lupinenextrakt. Ohne Einfluß war eine Zugabe von Kaliumkarbonat (bis zu 0,05 Proz.) oder von Citronensäure (ebenfalls bis zu 0,05 Proz. gegeben). Im Gegenteil schien die schwach saure oder schwach alkalische Reaktion des Nährbodens von ungünstigem Einfluß auf die Entstehung guter Bakteroiden zu sein.

Bekanntlich sind in den Knöllchen der Lupine die verzweigten Formen nicht so häufig zu finden, wie in den Knöllchen von *Pisum* oder *Vicia*. Auch in den von mir benutzten Kulturflüssigkeiten waren die verzweigten Formen der Lupinenbakterien nicht so zahlreich vorhanden, wie in den Kulturen, die mit Bakterien von *Vicia Faba* oder *Pisum* geimpft sind.

Ein etwas abweichendes Verhalten zeigten die Organismen, wenn diese auf Lupinenagar gezüchtet wurden. Auf neutralem Lupinenagar bildeten sich fast nur Stäbchen, die eine Länge von $1-1,5 \mu$ und eine Breite von $0,5 \mu$ hatten. War dem Nährboden 0,05 Proz. Kaliumkarbonat hinzugesetzt, so entwickelten sich die Bakterien nicht nur schneller, sondern diese waren (in einer 8 Tage alten Strichkultur) auch breiter und länger und kamen verzweigte Formen hier häufiger vor. Die Stäbchen waren meist $2,5-3 \mu$ lang und $0,8 \mu$ breit. Einzelne Bakteroiden hatten eine Länge bis zu 7μ und eine Breite von $0,8-1 \mu$. Es ist also eine auffällige Wirkung des Alkalis zu verzeichnen.

VIII. Die Bakterien von *Ornithopus*.

Als ein gutes flüssiges Nährsubstrat erwies sich Lupinenextrakt (10 g Lupinenmehl, 1 l Wasser). Meist wurden Stäbchen gebildet von 1—2 μ Länge und 0,5 μ Breite. Verzweigungen sind nur selten vorhanden und haben diese eine Länge bis zu 3 μ . Eine Zugabe von 0,5 Proz. Zucker hatte keine günstigere Wirkung. Durch eine weitere Zugabe von 0,05 Proz. Kaliumkarbonat blieb die Entstehung verzweigter Formen ganz aus.

Bemerkenswert ist das Verhalten der Serradellabakterien auf Lupinenagar. Auf neutralem Lupinenagar waren die Stäbchen 1—1,5 μ lang und 0,5 μ breit. Verzweigungen sind nicht zu finden. Dagegen kommen auf alkalischem Lupinenagar (10 g Lupinenmehl, 0,5 g Kaliumkarbonat, 10 g Agar, 1 l Wasser) verzweigte Formen häufiger vor, und sind alle Organismen größer und breiter (1,5—3 μ lang, 0,7 μ breit).

IX. Die Bakteroiden von *Soja hispida*.

Die verwendeten Kulturen verdanke ich der Güte des Herrn Hiltner-Berlin. Von Nährflüssigkeiten sind folgende benutzt:

Lupinenextrakt (10 g Lupinenmehl, 1 l Wasser). Die hierin gezüchteten Stäbchen haben eine Länge von 1—3 μ , eine Breite von 0,5—0,6 μ . Verzweigungen kommen selten vor. — Lupinenextrakt mit Zucker (0,5 Proz. Saccharose). Eine vorteilhafte Wirkung der Saccharose ist nicht zu verzeichnen. Die Länge der Stäbchen ist 1—2 μ , deren Breite 0,4 μ . Verzweigungen sind nicht vorhanden. Ein Zusatz von Alkali zur Nährlösung war ohne Einfluß.

Ein anderes Ergebnis erhielt ich bei Agarkulturen. Auf neutral reagierendem Lupinenagar waren die Stäbchen am 8. Tage nach der Impfung 1—1,5 μ lang und 0,4 μ breit. Die auf alkalischem Agar gewachsenen Organismen waren 2—3 μ lang und 0,7 μ breit. Verzweigungen kamen vor, aber selten.

Ein guter Nährboden ist Sojaagar (10 g Sojabohnen, 10 g Agar, 1 l Wasser). Die meist etwas gekrümmten Stäbchen waren 1,5—3 μ lang und 0,6 μ breit. Verzweigte Formen kommen selten vor. Die Formen der Stäbchen und der Bakteroiden der Knöllchen von *Lupinus*, *Ornithopus* und *Soja* in künstlichen Nährmedien sind einander so ähnlich, daß diese Organismen vielleicht als zu einer Gruppe gehörig betrachtet werden können.

Nachdruck verboten.

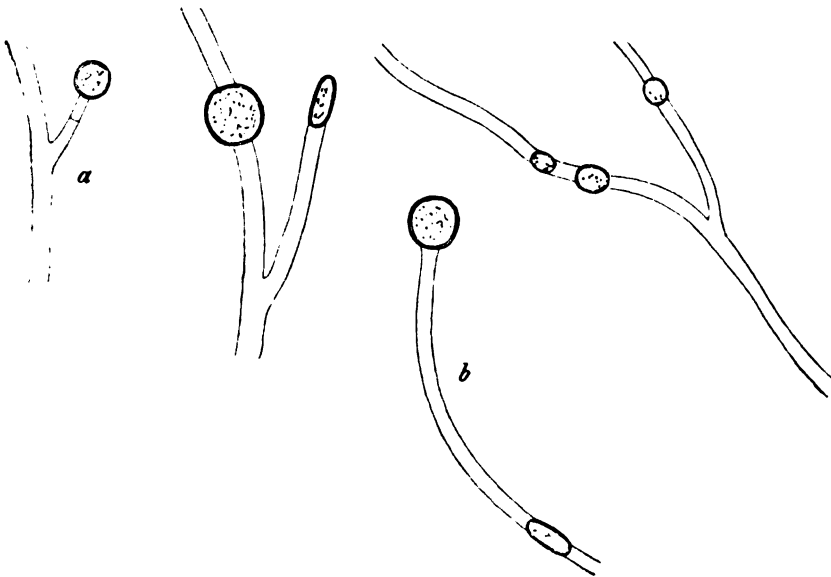
Bemerkung zum Fehlschlagen der Sporangien bei *Mucor Rouxii*.

Von T. Chrząszcz.

Mit 1 Figur.

Im Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. VII. 1901. No. 16 hat sich Prof. Wehmer in dem Artikel „Zum Fehlschlagen der Sporangien bei *Mucor Rouxii*“ geäußert, daß meine Verneinung des Fehlschlagens von Sporangien bei *Mucor Rouxii* auf Irrtum beruhe, indem er meint, daß seine Abbildungen über das Thatsächliche so wenig einen Zweifel aufkommen lassen, daß er den Punkt nicht näher auszuführen brauche.

Des weiteren meint Prof. Wehmer, daß eine mikroskopische Zeichnung diesen Punkt klarstellen könnte, deshalb bringe ich jetzt meine Abbildungen, welche ich damals bei der Bearbeitung dieses Themas gemacht habe.



Die Zeichnung „a“ und „b“ ist besonders ähnlich jener Abbildung, welche Prof. Wehmer als „Fehlschlagende Sporangien“ angegeben hat. Diese sind in fortschreitendem Alter der Kultur auf verschiedenen Nährsubstraten zu beobachten.

Meine Vermutung, daß man es hier mit Gemmen im Luftmycelium zu thun hat, wurde durch diese Auskeimung bestätigt.

Die Zeichnung stellt außer Zweifel, daß sie denselben Gegenstand behandelt, wie jene von Prof. Wehmer — der Unterschied liegt nur darin, daß ich den Beweis gebracht habe, daß diese Gemmen im Luftmycelium und nicht „Fehlschlagende Sporangien“ darstellen.

Nachdruck verboten.

Nachschrift.

Zum Artikel: „Ueber biochemischen Antagonismus“.
 Von **R. Emmerich** und **O. Loew**.

Nachdem dieser Artikel abgesandt war, lernten wir aus neuen Abhandlungen einige Thatsachen kennen, welche in Bezug auf die hier aufgestellten Ansichten von speziellem Werte sind.

Andreocci fand im vergangenen Jahre, daß in den von ihm untersuchten 4 Fällen es immer die optisch aktive Modifikation war, welche Triboluminiscenz¹⁾ zeigte, während die entsprechende racemische Verbindung sich als unwirksam erwies. Tschugaëff bestätigt dieses Prinzip durch weitere Beobachtungen (Ber. d. dtsh. chem. Ges. Bd. XXXIV. p. 1825). Dies zeigt, daß mit dem Verlust der optischen Aktivität bei der Bildung racemischer Körper auch Verluste anderer Eigenschaften verbunden sein können.

Daß optische Antipoden ferner ein verschiedenes Verhalten im Tiere zeigen können, geht aus einer neueren Abhandlung von Neuberg und Wohlgemuth über Arabinose hervor (Ber. d. dtsh. chem. Ges. Bd. XXXIV. p. 1745).

Zusammenfassende Uebersichten.

Nachdruck verboten.

Sammelreferate über die tierischen und pflanzlichen Parasiten der tropischen Kulturpflanzen.

Von Prof. Dr. **A. Zimmermann**,

Botaniker an der Versuchstation für Kaffeekultur (IX. Abteilung von 's Lands Plantentuin) zu Buitenzorg auf Java.

II. Die Parasiten des Kakaos.

Mit 3 Figuren.

Obwohl die Zahl der bisher beschriebenen tierischen und pflanzlichen Schädlinge beim Kakao eine viel geringere ist als beim Kaffee, kann doch darüber kein Zweifel bestehen, daß der Kakao in all den Gegenden, wo er seit einiger Zeit kultiviert wird, unter den verschiedenartigsten Krankheiten zu leiden hat, die stellenweise sogar einen nutzbringenden Anbau des Kakaos unmöglich gemacht haben. Wie aus älteren Publikationen hervorgeht, sind einzelne dieser Krankheiten jedenfalls schon seit langer Zeit vorhanden gewesen. Daß die im 17. Jahrhundert auf Jamaica blühende Kakaokultur später gänzlich zu Grunde gegangen ist, wird allerdings von Morris (I., 8) einem Orkan zugeschrieben. Von

1) Triboluminiscenz ist die Eigenschaft von Krystallen, beim Zerreiben Phosphorescenzlicht zu erzeugen.

Porter (I., 94) wird dahingegen bereits im Jahre 1835 eine Anzahl von Insekten erwähnt, die die Kakaokultur im tropischen Amerika beeinträchtigen. Ferner wurden 1859 von de Vrise (I., 301) verschiedene in Menado für die Kakaokultur schädliche Insekten aufgezählt. Von White¹⁾ wurde ferner 1883 angegeben, daß in Columbien durch einen mit *Hemileia vastatrix* verglichenen, aber nicht näher beschriebenen Pilz hunderte, vielleicht tausende von Acres Kakao zerstört sind.

Leider sind diese älteren Beschreibungen aber meist zu unvollständig, um ein sicheres Urteil darüber zu gestatten, inwieweit die früher beobachteten Feinde des Kakaos mit den in den letzten Jahren beobachteten und näher beschriebenen identisch sind. So wurden denn auch in der nachfolgenden Aufzählung nur diejenigen auf dem Kakao angetroffenen Tiere und Pflanzen berücksichtigt, die so genau beschrieben sind, daß sie wenigstens mit einiger Sicherheit klassifiziert werden konnten. Wie in meinem Referate über die Parasiten des Kaffees, habe ich dagegen auch solche Organismen, die nur als Saprophyten auf dem Kakao leben oder noch nicht sicher als Schädlinge nachgewiesen werden konnten, mit aufgenommen.

A. Tierische Parasiten.

I. Höhere Tiere.

Von höheren Tieren scheinen für den Kakao namentlich

1) Ratten schädlich zu sein. Nach Guérin (I., 42) wurden dieselben auf Guadeloupe durch Importierung der Bisamkatze (*Herpestes*) unschädlich gemacht.

Auf Trinidad wird ferner nach Elot (I., 361) durch

2) Eichhörnchen an den Früchten des Kakaos beträchtlicher Schaden angerichtet. Dieselben sind wohl nur durch Fangenlassen oder Vergiften zu vernichten.

II. Hexapoda, Insekten.

a. Coleoptera, Käfer.

1. *Lamellicornia*, Blatthornkäfer.

3) *Melolontha* sp. wurde von Hart (V) auf Trinidad in Kakaopflanzungen beobachtet. War der durch diese Käfer angerichtete Schaden auch noch nicht sehr beträchtlich, so wird doch angeraten, dieselben möglichst schnell sammeln und vernichten zu lassen.

2. *Buprestidae*, Prachtkäfer.

4) Larven von einer *Buprestide* fand ich im Kulturgarten zu Buitenzorg im Holze vom Stamme und dicken Zweigen von *Theobroma cacao*, diese sichtbar stark schädigend. Diese Larven (Fig. 1) besaßen die ansehnliche Länge von 130 mm. Ich habe auch versucht, sie zu kultivieren, sie sind mir aber nach einigen Monaten zu Grunde gegangen.

1) Referiert im *Bullet of the botan. Depart. Jamaica*. 1890. No. 20. p. 4.



Fig. 1. Buprestidenlarve aus dem Kakao. Auf $\frac{2}{3}$ verkleinert.

3. Curculionidae, Rüsselkäfer.

5) In Jamaica erhielt Cockerell (I., 103) Curculionidenlarven, die die Kakaobäume an den Wurzeln zerstören sollen; vielleicht stammen dieselben von *Præpodes vittatus*.

6) Einen nicht bestimmten Rüsselkäfer fand Teysmann (I., 364) in Menado in schwarz werdenden Kakaofrüchten und vermutet, daß derselbe gemeinschaftlich mit einer Bostrychide (No. 9) diese Krankheit verursacht.

4. Bostrychidae, Borkenkäfer.

7) *Xyleborus perforans* Woll. wurde nach Blandford (I., 156) in Surinam als schädlich für Kakaobäume nachgewiesen.

8) *Tomicus* sp. wurde von Willis und Green (I., 272) auf Ceylon in kranker Kakaorinde gefunden. Nach den Untersuchungen dieser Autoren ist aber der genannte Käfer nicht als die Ursache der Erkrankung anzusehen.

9) Eine nicht bestimmte Bostrychide wurde von Teysmann (I., 364) in Menado in schwarz werdenden Kakaofrüchten wahrgenommen und mit dem Schwarzwerden dieser Früchte in ursächlichen Zusammenhang gebracht.

10) Gänge einer *Bostrychus* sp. fand Hennings (I) in von Samoa stammenden Rindenstücken des Kakaos.

5. Cerambyciden, Bockkäfer.

11) Die Larven eines wahrscheinlich zu den Cerambyciden gehörigen Käfers wurden von Hart (I) auf Trinidad in der Rinde von *Theobroma* angetroffen. Wahrscheinlich handelte es sich hierbei um *Steirastoma depressum*, das von Urich (I., 197) bereits 1894 auf Trinidad nachgewiesen wurde und namentlich für junge Kakaopflanzungen schädlich sein soll. In neuerer Zeit wurde dieser Käfer auch auf Martinique im Kakao nachgewiesen und hat hier nach Thierry (I) namentlich im Jahre 1900 großen Schaden angerichtet, besonders in den unter 250 m hoch gelegenen Ländern. Nach Vitrac (cf. Landes. II., 232) ist *Steirastoma* nach Martinique wahrscheinlich von Trinidad oder Venezuela aus importiert. Die Larven desselben befinden sich bei jüngeren Pflanzenteilen im Marke, bei älteren teils in der Rinde, teils im Holze. Zur Bekämpfung derselben empfiehlt Vitrac (l. c.), die Käfer, die durch Fruchtfleisch der geöffneten Kakaofrüchte angelockt werden können, zu fangen und zu töten. Außerdem hält er es für zweckmäßig, durch Verschmieren aller am Stamme der Kakaopflanzen entstehenden Wunden zu verhindern, daß die Käfer in diese ihre Eier legen. Thierry (I., 265) em-

pfiehlt außerdem, in die Bohrlöcher der Larven Schwefelkohlenstoff zu spritzen und dieselben dann zu verschließen.

12) *Trachyderes succinctus* L. soll nach Lande's (I., 142) auf Martinique für Kakao schädlich sein. Von Vitrac (cf. Landes. II., 229) wird dies aber bezweifelt. Vitrac fand den genannten Käfer niemals auf Kakao, wohl aber auf Inga und *Erythrina*.

13) *Taeniotes farinosus* Oliv. wird als schädlich für den Kakao auf Guadeloupe angegeben. Von Vitrac (cf. Landes. II., 230) wird dies aber bezweifelt.

14) *Acanthoderes rusticus* und

15) *Callichroma elegans* sollen nach Landes (I., 142) auf Martinique für den Kakao schädlich sein.

16) *Colobothea* sp. ist nach Koningsberger (I., 37) auf Java schädlich für den Kakao. Die Larven machen in der Rinde lange Gänge. Nach Angabe desselben Autors (ibid.) kommt sehr wahrscheinlich auch

17) *Atmodes marmorea* Schönherr auf Java im Kakao vor.

18) *Glenea novempunctata* ist nach eigenen Beobachtungen in Mitteljava sehr schädlich für den Kakao. Die Larven befinden sich im Stamme, namentlich dicht über der Erdoberfläche.

b. Hymenoptera, Hautflügler.

1. Formicidae, Ameisen.

Blattschneiderameisen können im tropischen Amerika in den Kakaoanpflanzungen großen Schaden anrichten. Nach Hart (VII) sind auf Trinidad namentlich

19) *Atta (Oecodoma) cephalotes* Latr. und

20) *Atta (Oecodoma) octospinosa* Reich. anzutreffen, während Ulrich (I., 197) das Vorkommen von

21) *Atta sexdens* Latr. für Trinidad angiebt. Zur Zerstörung dieser Ameisen werden die oft sehr langen Nester mit viel Wasser begossen und die Ameisen dann in dem so entstandenen Schlamm umgerührt. Außerdem empfiehlt Hart (VII., 175) für spezielle Fälle noch verschiedene andere Bestreitungsmethoden, so namentlich das Einblasen von giftigen Gasen in die Nester. Wird für diesen Zweck Cyankalium benutzt, so ist natürlich große Vorsicht geboten. Zum Einblasen von schwefliger Säure dient ein unter dem Namen *Asphyxiator* beschriebener Apparat. Bei Nestern, die sich unter der Erde befinden, kann auch Teer mit gutem Erfolge verwandt werden. In manchen Fällen kann man die Nester auch mit Feuer zerstören.

Nach Guérin (I., 31) werden speziell die keimenden Samen des Kakaos von Ameisen beschädigt. Sie werden deshalb häufig mit Asche umgeben. Guérin hält es aber für empfehlenswerter, den Boden vor dem Aussäen des Kakaos tief umzuarbeiten und mit Asche von Schweinemist zu bedecken.

c. Lepidoptera, Schmetterlinge.

1. Xylotropha, Holzbohrer.

22) Ein mit *Zeuzera Coffeae* verwandter Bohrer kommt nach Kamerling und Zehntner (I., 56) auf Java in Zweigen von Kakaopflanzen vor. Ein erheblicher Schaden wird aber nur an vereinzelt Stellen durch dieses Insekt angerichtet. Eine Bestreitung desselben kann wohl nur durch Suchen und Töten der Raupen geschehen.

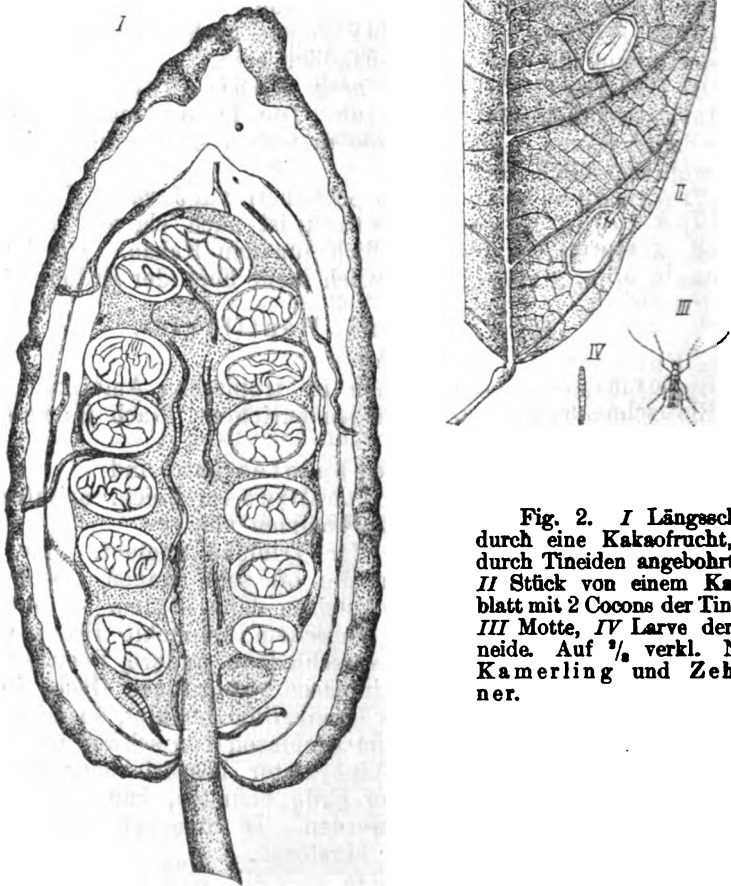


Fig. 2. I Längsschnitt durch eine Kakaofrucht, die durch Tineiden angebohrt ist. II Stück von einem Kakaoblatt mit 2 Cocons der Tineide. III Motte, IV Larve der Tineide. Auf $\frac{1}{8}$ verkl. Nach Kamerling und Zehntner.

2. Bombycidae, Spinner.

23) *Stauropus alternus* Walker kommt nach Green (I., 26) auf Ceylon auf dem Kakao vor.

24) *Latoia lepida* Cram. (Syn.: *Parasa lepida*) ist nach Königsberger (I., 24) auf Java für den Kakao schädlich. Außerdem fand der gleiche Autor (I., 25) ebenda:

25) *Setora nitens* Wlk. (Syn.: *Miresa nitens* Snell).

3. Tortricidae, Wickler.

26) Eine *Tortrix* sp. kommt nach Koningsberger (I., 15) auf Java sehr häufig auf dem Kakao vor.

4. Tineidae, Motten.

27) Eine noch nicht bestimmte Tineide, die von Koningsberger (I., 13) als *Cosmopteryx* sp.? bezeichnet, von Kamerling und Zehntner (I., 51) aber in die Nähe von *Gracillaria* gestellt wurde, richtet auf Java in den Kakaoanpflanzungen großen Schaden an. Die Larven dieser Motte (Fig. 2, IV) leben in den unreifen und fast reifen Früchten (Fig. 2, I), die dann gewöhnlich absterben und verfaulen. Die Verpuppung der Larven findet meist auf den Blättern statt (Fig. 2, II), wo sich die Raupe zunächst mit einem gelben Häutchen bedeckt. Zur Bestreitung der Krankheit wird von Kamerling und Zehntner angeraten, in einem gegebenen Momente, etwa nach der Haupternte, alle noch an den Bäumen vorhandenen unreifen Früchte abzupflücken und zu vernichten, so daß die in denselben vorhandenen Raupen getötet werden, etwa zurückbleibende aber verhungern müssen.

28) *Ephestia* sp. wurde von Riley (II., 2121) in Nordamerika in Kakaobohnen beobachtet, die durch die Angriffe dieses Insektes aber keine inferieure Qualität erhielten. Riley hält dasselbe auch nicht für gefährlich.

29) *Ephestia elutella* (Syn.: *Phycita elutella* Curtis und Stephens) wurde nach W. (I) in London in Kakaobohnen, die dadurch stark beschädigt wurden, angetroffen. Ob die Larven dieser Motte bereits in der Heimat in die Kakaobohnen eingedrungen sind, wird unentschieden gelassen.

d. Hemiptera, Schnabelkerfe.

1. Heteroptora, Wanzen.

30) *Helopeltis Antonii* Sign. richtete nach Trimen (I) schon im Jahre 1884 auf Ceylon in den Kakaoanpflanzungen großen Schaden an. Auf Java wurde im Jahre 1894 von A. King *Helopeltis* als ein für den Kakao schädliches Insekt erkannt. Nach Riley (III) handelte sich in diesem Falle um

31) *Helopeltis Bradyi* Waterh., während Kamerling und Zehntner (I., 60) die auf Java auf dem Kakao gefundenen Exemplare als *Helopeltis Antonii* Sign. bestimmten.

Die durch *Helopeltis* am Kakao erzeugten Beschädigungen bestehen nach eigenen Beobachtungen (I., 444) bei den jungen Triebspitzen (Fig. 3, II) darin, daß diese braunschwarze Flecken bekommen und dann gewöhnlich vollständig vertrocknen. Auf den Früchten (Fig. 3, I) bewirkt *Helopeltis* ferner kleine, ungefähr kreisförmige, schwarze Flecken. Bei der Bestreitung dieses Insektes ist zu berücksichtigen, daß dasselbe noch auf verschiedenen anderen Pflanzen vorkommt. So konnte ich (I) dasselbe auch auf *Bixa orellana*, die auf Java häufig in Kaffee- und Kakaopflanzungen als Windbrecher angepflanzt wird, nachweisen. Ich konnte auch beobachten, daß die auf dieser Pflanze gesammelten Tiere auf

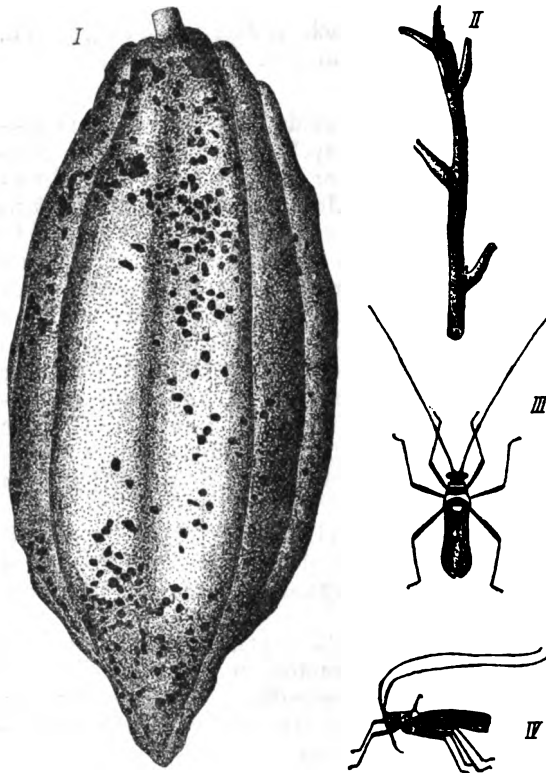


Fig. 3. I Kakaofrucht, durch *Helopeltis* angestochen. II Triebspitze vom Kakao, durch das gleiche Insekt verwundet. III u. IV *Helopeltis* Antonil. I u. II $\frac{1}{2}$, nat. Gr. III u. IV 2mal vergr.

Triebspitzen und Früchten des Kakaos die oben beschriebenen Beschädigungen hervorbrachten.

32) Distant (I) erhielt im Jahre 1884 von Ceylon aus ein Insekt als *Helopeltis* zugesandt, das nach näherer Untersuchung zu den Raubwanzen (*Reduviidae*) gehört und vielleicht als natürlicher Feind von *Helopeltis* anzusehen, jedenfalls nicht zu vernichten ist.

33) Rimbach (I) beobachtete in Ecuador eine als „Mosquilla“ bezeichnete Krankheit der Kakaofrüchte, die durch eine zu den Phytocoriden gehörige Wanze verursacht wird. Zur

Bekämpfung derselben empfiehlt Rimbach, in den Monaten, in denen nur wenige Früchte vorhanden sind, diese wiederholt abzustossen und zu vernichten. Hierdurch werden die in den Früchten befindlichen Eier und die etwa darauf anwesenden Larven getötet. Außerdem wird aber auch den geschlechtsreifen Tieren die Nahrung und die Gelegenheit zum Eierlegen entzogen. Allerdings ist hierbei die Voraussetzung gemacht, daß die Wanzen sich nur von den Früchten ernähren und auch nur in diese ihre Eier legen, was für *Helopeltis* jedenfalls nicht zutrifft.

2. Homoptera, Zirpen.

34) Von Hart wurde auf Trinidad ein den Kakao schädigendes Insekt beobachtet, das nach Riley (I) wahrscheinlich zu der Gattung *Horicola* gehört.

3. Phytophthires, Pflanzenläuse.

35) *Dactylopius* sp. kommen nach Koningsberger (I, 3) auf den jungen Früchten des Kakaos in großen Mengen vor.

Nach Kamerling und Zehntner (I., 58) scheinen sie aber nur jungen Früchten einen merklichen Schaden zuzufügen. Bei diesen wird zur Bekämpfung Bespritzung mit Petroleumemulsion anbefohlen.

e. Orthoptera, Geradflügler.

36) Nach Guérin (I., 40) werden auf Guadeloupe junge Kakaopflanzen durch Grillen und Heuschrecken stark beschädigt.

III. Crustacea, Krustentiere.

37) Nach Guérin (I., 43) werden auf Guadeloupe junge Kakaopflanzen durch Krabben beschädigt. Er empfiehlt, dieselben fangen zu lassen und als Nahrungsmittel zu verwenden.

B. Pflanzliche Parasiten.

I. Phanerogama.

38) Loranthaceen kommen auf Java nach Kamerling und Zehntner (I., 44) nur ausnahmsweise in größerer Menge auf Kakaobäumen vor.

II. Fungi.

a. Hymenomycetes.

1. Telephoraceae.

39) Hennings (I) fand auf Wurzelstücken von *Theobroma cacao*, die aus Samoa stammten, einen Pilz, der sehr schädlich zu sein scheint und vielleicht mit *Hymenochaete leonina* B. u. C. identisch ist.

b. Phycomycetes.

1. Peronosporaeae.

40) *Phytophthora omnivora* de By. wurde von Massee (II) auf Kakaofrüchten, die von Trinidad stammten, nachgewiesen. Nach Hart (III u. IV) kommt der gleiche Pilz auch in Granada und in Surinam vor, scheint hier aber nur stellenweise sehr beträchtlichen Schaden angerichtet zu haben. Zur Bekämpfung des Pilzes empfiehlt Massee (II., 4), die Früchte alle 10 Tage mit Bordeauxmischung zu bespritzen, der, damit sie besser haftet, etwas getrocknetes Blut zugesetzt ist. Ferner sind alle vertrockneten Früchte und auf dem Boden herumliegenden Schalen zu vernichten. Schließlich wäre noch darauf zu achten, ob der gleiche Pilz nicht auch auf anderen Pflanzen vorkommt.

Vielleicht ist der gleiche Pilz auch die Ursache des auf Ceylon sehr verbreiteten Absterbens der Kakaofrüchte. Diese Erscheinung wird wenigstens von Carruthers (I u. II) einer Peronosporae zugeschrieben. Leider fehlt aber zur Zeit noch eine wissenschaftliche Beschreibung dieses Pilzes.

c. Pyrenomycetes.

1. Sphaeriaceae.

41) *Melanomma Henriquesianum* Bres. u. Roum. findet sich nach Hennings (I., 91) auf der Insel St. Thomé auf der Rinde von Kakaobäumen.

42) Nach Landes (I., 141) kommen Xylariaceen auf Martinique auf abgestorbenen Kakaobäumen vor. Er läßt es aber unentschieden, ob dieselben als die Ursache des Absterbens anzusehen sind.

2. Hypocreaceae.

43) *Nectria Bainii* Masee wurde von Masee (I u. II) auf erkrankter Rinde von *Theobroma*, die aus Trinidad stammte, nachgewiesen. Er empfiehlt, zur Bekämpfung dieses Pilzes dem Entstehen von Wunden an den Kakaobäumen möglichst vorzubeugen, die kranken Flecke auszuschneiden, mit Sublimat zu waschen und dann mit Teer oder etwas derartigem zu bestreichen.

Ob dieser Pilz mit dem von Carruthers (I u. II) erwähnten Ascomyceten, der auf Ceylon eine sehr verbreitete Rindenkrankheit des Kakaos („canker“) bewirkt, identisch ist, ist nicht mit Sicherheit zu entscheiden, da Carruthers von seinem Pilze noch keine wissenschaftliche Beschreibung gegeben hat.

44) *Nectria coffeicola* Zim. und

45) *Calonectria cremaea* Zim. wurden von mir (II., 103 u. 140) auf abgestorbenen Kakaofrüchten beobachtet; sehr wahrscheinlich sind aber beide Pilze erst nach dem Absterben der Früchte aufgetreten. Ebenso ist wahrscheinlich unschädlich die von mir (II., 105) auf den Zweigen von *Theobroma cacao* beobachtete *Nectria striatospora* Zim.

d. Gymnoasceae.

46) *Exoascus Theobromae* R. B. verursacht nach den Untersuchungen von Ritzema Bos (I) in Surinam das Entstehen von Hexenbesen („krulloten“) an den Kakaobäumen. Der hierdurch angerichtete Schaden ist in manchen Distrikten sehr beträchtlich. Ob die an verschiedenen Schatten- und Waldbäumen beobachteten Hexenbesen durch den gleichen Pilz veranlaßt werden, ist noch zu untersuchen.

e. Sphaeropsidaceae.

1. Sphaeroidaceae.

47) *Botryodiplodia Theobromae* Pat. umgibt nach Patouillard und Lagerheim (I., 136) in S. Domingo de Colorado die Früchte des Kakaos mit einer schwarzen Kruste.

Unter dem gleichen Namen wurde von Hennings (I., 91) ein Pilz beschrieben, den er auf aus Venezuela und Kamerun stammenden Kakaofrüchten gefunden hat.

48) *Diplodia cacaicola* P. Henn. kommt nach Hennings (II. p. 80) in Kamerun auf Zweigen von Kakao vor, die durch Insektenfraß angegriffen und zum Teil abgestorben waren.

49) *Macrophoma vestita* Prill. u. Delacr. wurde von Prillieux und Delacroix (I. p. 165) an den Wurzeln von *Theobroma cacao* gefunden. Die betreffenden Bäume hatten unter Wasser gestanden und waren abgestorben. Welche Rolle hierbei der genannte Pilz gespielt hat, blieb zweifelhaft.

2. Melanconiaceae.

50) Auf Blättern von Kakaopflanzen, die im botanischen Garten zu Berlin kultiviert waren, fand Hennings (I) einen gelbe Flecken verursachenden Pilz, der vielleicht mit *Gloeosporium affine* identisch ist.

51) *Myxosporium Theobromae* wurde von van Breda de Haan (I., 13) auf Java auf jungen Aesten und Blattstielen von *Theobroma* sp. beobachtet.

f. Hyphomycetes.

1. Mucedineae.

52) *Clonostachys Theobromae* Del. wurde von Delacroix (I., 114) auf Früchten von *Theobroma Cacao*, die von Kolumbien stammten, nachgewiesen.

53) *Aspergillus Delacroixii* Sacc. u. Syd. (syn.: *Aspergillus olivaceus* Del.) wurde von Delacroix (I., 119) zwischen den Kotyledonen von Kakaosamen, die aus Kolumbien stammten, nachgewiesen.

2. Dematiaceae.

54) *Fusarium album* Sacc. findet sich nach Hart (II) auf Trinidad an abgestorbenen Zweigen von *Theobroma*, wahrscheinlich aber nur als Wundparasit.

III. Lichenes.

55) Dicke Krusten einer nur im soredienbildenden Zustande beobachteten Flechte, die wahrscheinlich eine *Isidium* sp. darstellt, bedecken nach Lagerheim (I., 196) die Stämme des Kakaos und ersticken die Anlagen der Blüten und verstopfen die Lenticellen. In Ecuador wird diese Krankheit als „mancha“ bezeichnet.

56) Anhang. Gummosis. Mangin (I) beobachtete an von Guadeloupe stammenden Zweigstücken von *Theobroma* in Holz und Rinde eine starke Gummibildung, während Spuren von irgendwelchen Parasiten nicht aufgefunden werden konnten.

Litteratur.

- Blandford, W. F. H., I. Sur-cane borers in the West-Indies. (Kew Bullet. of Misc. Inform. 1892. p. 153.)
 van Breda de Haan, J., I. Vorläufige Beschreibung von Pilzen, bei tropischen Kulturpflanzen beobachtet. (Bullet. de l'Inst. bot. de Buitenzorg. 1900. No. 6. p. 10.)
 Carruthers, J. B., I. Cacao disease investigations. (Planting Opinion. Vol. III. 1898. p. 266.)
 — —, II. Cacao and its enemies in Ceylon. (Ibid. p. 590.)
 Cockerell, T. D. A., I. Agricultural pests. (Special Publications of the Institute of Jamaica. 1893. No. 3. p. 97.)
 Cotes, E. C., I. A conspectus of the insects which affect crops in India. (Indian Museum Notes. Vol. II. 1893. No. 6.)
 Delacroix, M. G., I. Quelques espèces nouvelles. (Bullet. de la Soc. mycolog. de France. T. XIII. 1897. p. 114.)

- Distant, L. W., I. Insect pests in Ceylon. (Nature. Vol. XXX. 1894. p. 634.)
 Elot, I. Une mission à Trinidad. (Revue des cultures coloniales. T. VI. 1900. p. 327.)
 Green, E. E., I. Insect pests of the tea plant. Colombo 1890.
 Guérin, P., I. Culture du cacaoyer. Paris 1896.
 Hart, J. H., I. Cacao beetle. (Trinidad. Bullet. of Misc. Inform. 1894. p. 238.)
 — —, II. Cacao disease. (Ibid. p. 258.)
 — —, III. Cacao pod disease. (Ibid. Vol. III. 1899. p. 167.)
 — —, IV. Cacao pod disease. (Ibid. p. 182.)
 — —, V. „Cockchafer“, „May-Bug“ or „Beetle“. (Ibid. Vol. II. p. 90.)
 — —, VI. The leaf-miner. (Ibid. Vol. III. 1900. p. 231.)
 — —, VII. Life history of the parasol ant. (Ibid. Vol. II. 1896. p. 166.)
 Hennings, P., I. Ueber Krankheiten von Kulturpflanzen. (Notizblatt des bot. Gartens und Museums zu Berlin. Bd. I. 1895. p. 85.)
 — —, II. Fungi camerunenses. I. (Botan. Jahrbücher. Bd. XXII. 1897. p. 72.)
 Kamerling, Z. und Zehntner, L., I. Voorloopig overzicht over de ziekten en plagen, die in de Cacao op Java voorkomen. (De Indische Natuur. Jaarg. I. 1900. p. 43.)
 Koningsberger, J. C., I. Eerste overzicht der schadelijke en nuttige insecten van Java. (Mededeel. uit 's Lands Plantentuin. 1898. No. 22.)
 de Lagerheim, G., I. Die „mancha“ der Kakaobäume. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1892. p. 195.)
 Landes, G., I. La culture du cacaoyer à la Martinique. (Revue des cultures coloniales. T. VI. 1900. p. 137.)
 — —, II. Les insectes qui attaquent le cacaoyer. (Ibid. p. 228.)
 Mangin, L., I. Sur la maladie de la gomme chez le cacaoyer. (Compt. rend. T. CXXIV. 1897. p. 312.)
 Massee, G., I. Diseased cacao bark from Trinidad. (The Tropical Agriculturist. Vol. XIX. 1900. p. 478.)
 — —, II. Cacao disease in Trinidad. (Kew Bullet. of Misc. Inform. 1899. No. 145. p. 1.)
 Morris, D., I. Cacao, how to grow and how to cure it. Jamaica 1882.
 Patouillard, N. und de Lagerheim, G., I. Champignons de l'Equateur. II. (Bull. de la soc. mycol. de France. T. VIII. 1892. p. 111.)
 Porter, G. R., I. De landbouw tusschen de keerkringen. Holländische Uebersetzung von de Sturler. Groningen 1845.
 Prillieux und Delacroix, I. Sur quelques champignons nouveaux ou peu connus parasites sur les plantes cultivées. (Bull. de la Soc. mycol. de France. T. X. 1894. p. 161.)
 Riley, C. V., I. Damage to Cacao in Trinidad. (Insect Life. Vol. V. p. 203.)
 — —, II. The insects occurring in the foreign exhibits of the world's Columbian exposition. (Ibid. Vol. VI. p. 213.)
 — —, III. The cacao bug of Java. (Ibid. p. 339.)
 Rimbach, A., I. Durch Wanzen verursachte Schädigung des Kakaos im Küstenlande von Ecuador. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. V. 1895. p. 321.)
 Ritzema Bos, J., I. De „krulloten“ der Cacaoboomen. (De Indische Mercur. 1900. p. 845.)
 Teysmann, J. E., I. Verslag van den Honorair-Inspecteur van Kultures. (Natuurk. Tijdschr. v. Nederl. Indië. Deel XXIII. 1861. p. 290.)
 Thierry, A., I. Un ennemi du cacaoyer. (Revue des cultures coloniales. T. VI. 1900. p. 261.)
 Trimen, H., I. The cacao-bug of Ceylon. (Nature. Vol. XXXI. 1885. p. 172.)
 Urich, F. W., I. Notes on some insect pests of Trinidad. (Insect Life. Vol. VI. p. 196.)
 de Vriese, W. H., I. Aanteekeningen betreffende de kaakaokultuur in de Residentie Menado. (Natuurk. Tijdschr. v. Nederl. Indië. Deel XX. 1859. p. 289.)
 W., J. C., I. A moth injuring dried cacao beans. (The Gardeners Chron. Vol. I. 1885. p. 800.)
 Willis, J. C. und Green, E., I. The cacao canker. (The Tropical Agriculturist. Vol. XVII. 1897. p. 272.)
 Zimmermann, A., I. Korte opmerkingen over eenige ziekten en plagen van koffie en bijcultures, waargenomen op eenige koffielanden van Oost-Java. (Teysmannia. 1900. p. 437.)
 — —, II. Ueber einige an tropischen Kulturpflanzen beobachtete Pilze. I. (Centralbl. f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. VII. 1901. p. 101.)

Referate.

Meyer, Arthur, Ueber Chlamydosporen und über sich mit Jod blau färbende Zellmembranen bei den Bakterien. (Ber. d. dtsh. bot. Gesellsch. Bd. XIX. Heft 6. p. 428 ff. Mit 1 Taf.)

Bezugnehmend auf eine früher erschienene Abhandlung, glaubt Verf., daß einige Bakterienarten Chlamydosporenbildung zeigten. Im Folgenden giebt M. alsdann die morphologischen Merkmale an, welche er beobachtet hat, und zwar in alten Kulturen von *Bac. cohaerens* A. M. et Gottheil, *Bac. ellenbachensis* Stutzer und *Bac. ruminatus* A. M. et Gottheil.

Es fanden sich in den Kulturen Gebilde, welche nach Verf. den Chlamydosporen der Pilze ähnlich sind. Die benutzten Kulturen waren 4 Monate alt und älter. M. fand in diesen in verschiedenen Teilen des Nährbodens teils freie Sporen, teils in Lösung begriffene Zellen, teils septierte Zellfäden und Stäbchengruppen von dickeren Fäden, welche mehr oder weniger gerade und gekrümmt waren. Zwischen plasmareichen Zellen lagen mehr oder weniger angeschwollene plasmareiche, aber glykogenfreie Zellen, welche eine dickere Membran zeigen, als die gewöhnlichen Zellen des Spaltpilzes. Verf. bezeichnet dieselben, deren Verhalten gegen Farbstoffe und Jodjodkalium er noch bespricht, als „Chlamydosporen“, welche er auch bei den übrigen genannten Bakterien in derselben oder ähnlichen Weise fand. M. findet weiterhin, daß die Gemmenbildung anscheinend unter Umständen eintritt, welche für die Sporangienbildung ungünstig sind.

Bac. ellenbachensis bildet sofort bei der Keimung „Schwärmoidien“, später kurze Zellfäden, nach ungefähr 50 Stunden bei 28° meist etwas anschwellende, fettführende Sporangien.

Bei *Bac. ruminatus* waren die Chlamydosporen kugelförmig, hatten homogene Protoplasten und dicke Membran.

Verf. beschreibt weiter seine Befunde bei *Bac. subtilis*, *simplex* und *fusiformis*, wo er statt der Gemmen nur plasmarme Stäbchen beobachtete. Bei *Bac. carotarium* waren neben abgestorbenen Zellen solche normaler Formen, bei *Bac. graveolens* besaßen derartige Stäbchen stärker abgerundete Ecken als die normalen.

Verf. geht nun zum Vergleich der gefundenen Formen mit den Chlamydosporen verschiedener Pilze über und betont die Wichtigkeit weiterer Forschung über jene oben genannten Elemente und bedeutet, daß er bisher keine Keimungsversuche wegen ungenügender Menge reifer Chlamydosporen angestellt habe.

Die beigegebene Tafel bringt die Abbildungen der genannten Elemente. (Es scheint beinahe, wenigstens wie aus den Zeichnungen hervorgeht, als ob es sich hier um Involutionen handelte, welche ja gerade in älteren Kulturen in nicht geringer Menge vorhanden sind! D. Ref.) Hoffentlich gelingt es weiteren Beobachtungen, Klarheit zu bringen.

Ein weiterer interessanter Abschnitt bringt einige Beobachtungen des Verf.'s, bei welchen er bei verschiedenen Bakterien mit Jod eine intensive Blaufärbung der Membranen erhielt. Die Zellmembranen der Bakterien reagierten wie die Hyphen und Asken mancher Flechtenbildner. Als Versuchsobjekt diente *Bact. Pasteurianum*. Der Schleim wurde bei jungen Zellen nebst der peripheren Membranschicht hellblau gefärbt, die innerste Schicht der Zellmembran dunkelblau. Bei starkem Jodzusatz wird die Blaufärbung von der Braunfärbung verdeckt. Den Schleim sieht Verf. als die Verquellung der äußeren Membran an.

Thiele (Halle a. S.).

Wahl, Robert and Henius, Max, American handy-book of the brewing, malting and auxiliary trades. 1266 p. Chicago 1901.

Die zwei Herausgeber sind Chefs der bekannten „American Brewing Academy“ in Chicago und als Mitarbeiter haben sie verschiedene zu ihrem Institute in Beziehung stehende Herren gewonnen. Das Buch enthält Alles, was dem Brauer nützlich sein kann, z. B. sogar auch Arithmetik und Algebra. Was hier von besonderem Interesse ist, sind namentlich die Abschnitte über die Mikroorganismen, Hefe und Gärung, Hefereinzucht und „das Laboratorium des Brauers für Mikroskopie“. Besonders der erstgenannte Abschnitt ist reich illustriert. Der Text ist übersichtlich geordnet und kurz gefaßt. So ist z. B. die Beschreibung der Mikroorganismen tabellarisch geordnet. Alles Wesentliche ist berücksichtigt, und das Buch wird in vollem Maße das sein, was auf dem Titelblatte angegeben wird, ein Hand- und Nachschlagebuch für den Brauer. Aber auch dem Technologen und dem Biologen, der sich mit dem Brauwesen beschäftigt, wird es von Nutzen sein, so auch weil man darin Auskunft über den Unterschied zwischen dem Brauwesen in Europa und in Amerika bekommt, sowohl in Bezug auf die Ober- als die Untergärung. Wertvoll in dieser Beziehung ist auch das brautechnische Wörterbuch (Englisch-Deutsch und Deutsch-Englisch), welches sich am Schlusse des Buches findet, ebenso wie auch die Bibliographie, die ein Verzeichnis aller Originalartikel enthält, die besondere Rücksicht auf das Brauwesen in den Vereinigten Staaten nehmen.

Klöcker (Kopenhagen).

Heinze, Berthold, Einiges über die Krankheiten und Fehler beim Weine unter besonderer Berücksichtigung der Infektionskrankheiten desselben. (Hyg. Rundschau. 1901. Heft 7 u. 8.)

Bringt uns die vorliegende Arbeit auch nichts besonders Neues, so hat es Verf. doch in dankenswerter Weise übernommen, einmal alles Wissenswerte auf diesem Gebiete übersichtlich zusammenzustellen und die zahlreich darüber vorhandene Litteratur zum größten Teile zu sichten.

Nachdem eingangs die Bereitung des Weines vom Beginn der Traubenreife ab eingehend bis zur Flaschenreife in

ihren einzelnen Phasen behandelt ist, entwirft Verf. ein Bild vom Schönen des Weines, Wert besonders auf das Lesegut legend. Hierauf geht er auf die Fehler des Weines im speziellen ein, ihre Aetiologie und Therapie, soweit dieselben bekannt sind, erörternd.

Als erster Schädiger wird das vielfach auftretende *Mycoderma vini* (Autor? Ref.) besprochen, sowie dessen Rassen und Wirkungen. Eine weitere Krankheit ist der Essigstich, dessen verschiedene Erreger vom Verf. angeführt werden, die aber nicht so gefährlich ist, wie der sehr selten zu entfernende Mausegeschmack. Fernerhin finden Berücksichtigung der Milchsäurestich, die Mannitkrankheit, das Umschlagen (das Trüb-, Weichwerden, Zäh-, Lang-, Fett-, Schwer-, Oehligwerden und andere), das Bitterwerden, der Schimmelgeschmack, das Böckern, die Schwefelsäurefirne und das Schwarzwerden.

Einen besonderen Abschnitt widmet Verf. den Besprechungen der Wirkungen genannter Krankheiten auf den menschlichen Organismus, hervorhebend, daß bisher noch keine endgiltigen Untersuchungen über etwaige Störungen vorliegen, daß aber zweifellos infolge Anwesenheit der verschiedenen Organismen Indispositionen hervorgerufen werden können.

Mit einer Anregung zu bakteriologischen Forschungen auf diesem Gebiete schließt die interessante Arbeit, auf deren Einzelheiten im Original verwiesen sei. Thiele (Halle a. S.).

Ott de Vries, J. J. und Boekhout, F. W. J., Beitrag zur Kenntnis der Labgerinnung. (Die landwirtschaftl. Versuchsstation. Bd. LV. Heft 3.)

Die Verf. widersprechen der besonders von Hammarsten und Söldner vertretenen Ansicht, daß die Gerinnungsfähigkeit der Milch durch die Anwesenheit von Kalksalzen wesentlich beeinflusst werde. Sie fanden, daß sich die zuweilen im Handel erhältliche nicht gerinnungsfähige Milch im Gehalt an löslichen Kalkverbindungen von normaler Milch nicht unterschied. Auch daß der Verlust des Gerinnungsvermögens gekochter Milch mit niedrigem Säuregrade seinen Grund in dem Unlöslichwerden von Kalksalzen habe, wird nicht zugegeben, vor allem deshalb, weil manche Milchsorten, welche nach dem Kochen gut gerinnungsfähig bleiben, ebenfalls eine nicht unbedeutende Abnahme an löslichen Kalkverbindungen aufweisen.

Der von Söldner ausgeführte Versuch, nicht mehr gerinnbare Milch durch Einleiten von Kohlensäure wieder gerinnungsfähig zu machen, wird von den Verff. nicht durch die hierbei erfolgende Lösung von Calciumphosphat erklärt, sondern die wiedergewonnene Gerinnungsfähigkeit wird vielmehr auf die gesteigerte Acidität zurückgeführt. Der Säuregrad spielt überhaupt bei der Labgerinnung eine wichtigere Rolle als der Kalkgehalt. Die Hauptursache der Aenderung in der Gerinnungsfähigkeit von Milch durch verschiedene chemische und physikalische Eingriffe liegt aber wahrscheinlich in den Wandlungen, welche das Eiweißmolekül bei solchen Vorgängen erleidet. Vogel (Posen).

Peter, A., Untersuchungen über geblähte Käse. (Landwirtschaftl. Jahrbuch der Schweiz. 1901. p. 376.)

Mit dieser gediegenen Arbeit bereichert der Verf. unsere Kenntnisse über die Ursachen der Käseblähung in wesentlicher Weise. Derselbe unterscheidet 3 verschiedene Arten von geblähten Emmenthalerkäsen:

1) **Preßlerkäse.** Bei diesem beginnt die Blähung bereits unter der Presse. Die Käse blähen schwammartig auf und bekommen einen seifig-bitteren Geschmack.

2) **Ladtönige Käse.** Es tritt hier während des Verbleibens des Käses auf der Presse („auf dem Lad“) an einzelnen Stellen im Käseteig Gasbildung auf, ohne daß der Käse eigentlich aufgebläht wird. Die bösen Stellen kennzeichnen sich beim Aufklopfen durch ihren hohlen Ton, deshalb der Name „ladtönig“. Diese Erscheinung ist nachteilig, weil an der betreffenden Stelle die Lochung unregelmäßig wird und der Käsehändler bei der Auswahl mit Vorliebe dort anbohrt, worauf das betreffende Stück als zweite Qualität liegen bleibt.

3) **Nachträglich geblähte Käse.** Diese verhalten sich auf der Presse meist ruhig, doch setzt die Gärung im Keller oder im Speicher dann viel zu früh oder zu stark ein. Es entstehen hier aber zum Unterschiede von Preßlerkäse größere, teils normale Löcher, bloß in übertriebener Anzahl.

Mit Recht weist Verf. darauf hin, daß letztere Art von Blähung und Preßler vom Standpunkte der wissenschaftlichen Forschung auseinanderzuhalten seien. Bei letzterem handelt es sich um eine Milchzuckergärung, die stürmisch verläuft und von bestimmten Bakterien verursacht wird (Blähungserreger). Tritt dagegen die Blähung erst später auf, so kann der Milchzucker keine Rolle dabei spielen, da derselbe schon nach wenigen Tagen aus dem Käse verschwindet. (Vergl. Orla Jensen, Studien über die Lochbildung im Emmenthalerkäse, diese Zeitschrift. 2. Abt. Bd. IV. p. 217.) In diesem Falle muß daher die Blähung auf andere Ursachen zurückgeführt werden und sie ist wohl bloß als eine Uebertreibung der normalen Lochbildung aufzufassen. In Bestätigung dieser Ansicht kann Referent mitteilen, daß es ihm in der That nie gelungen ist, aus solchen nachträglich geblähten Käsen die bei Preßlerkäse vorkommenden Blähungserreger zu züchten. Mit dieser Art Blähung hat sich Verf. nicht weiter befaßt, es steht somit hier noch ein weites Feld der Forschung offen.

Seine Untersuchungen über Preßlerkäse dagegen stützen sich auf ein sehr reiches Material (44 Fälle von Betriebsstörungen).

In allen Fällen fand Verf. als Erreger der Gasentwicklung in frischem Käse eine besonders stark gärende Varietät von *Bac. coli communis* und *Bac. lactis aërogenes*. Nur in 2 Fällen wurde das Käselab als Träger von virulenten Formen gefunden; dagegen gelang der Nachweis derselben in der Milch durch die Gärprobe sehr leicht. Verf. kommt daher zu dem Schlusse, daß sie meistens durch die Milch eingeführt werden. Seine Versuche ergaben ferner, daß die Infektion der Milch mit Blähungserregern

außerhalb der Milchkisterne erfolgt und daß der Stallkot als Träger derselben zu bezeichnen ist. Besonders gefährlich scheinen chronische und vorübergehende Verdauungsstörungen bei den Milchtieren, weil dann der Kot auffallend reich an stark gärunsfähigen Coli-Arten wird. Mit Recht betont Verf., daß den Verdauungsstörungen erhöhte Aufmerksamkeit zu schenken sei und daß weitere Untersuchungen über die Wirkungen der Verdauungsstörungen auf die Milch und die Bakterienflora des Kotes ersprießlich sein würden. Verf. beschäftigt sich endlich eingehend mit den Mitteln zur Bekämpfung der Preßlerbildung. Er befürwortet hauptsächlich:

a) Den Ausschluß aller chemisch mangelhaften Milch, besonders Biestmilch, räßsalzige Milch, sowie Milch von altmelken Kühen. Bei Verwendung solcher Milch trocknet, wie der Praktiker weiß, der Käse nur schwer, weil er zu viel Sirte zurückbehält, was der Vermehrung der Blähungserreger günstige Bedingungen schafft.

b) Maßregeln zur Verminderung der Zahl der eingeführten Blähungserreger (Vermeidung von Verdauungsstörungen, gesunde Stallungen und Reinlichkeit beim Melken).

Änderungen im Fabrikationsverfahren erwiesen sich nur beschränkt wirksam. Dagegen berechtigen die Studien des Verf.'s über das Verhalten der Milch in der Gärprobe zu der Hoffnung, daß man vielleicht durch Zusatz anderer Bakterien die Blähungserreger unterdrücken könnte. Verf. hat nämlich gefunden, daß durch Zusatz von gesundem Käselab oder Sauer die Blähung von Gärprobemilch unterdrückt werden könne, offenbar weil die Blähungserreger gegenüber den Milchsäurefermenten nicht mehr aufkommen mögen. Auch hat er bemerkt, daß bis 38° in der Gärprobe vorzugsweise saure, von 38—43° aber eher geblähte Milchen entstehen, was dafür spricht, daß letztere Temperatur den Blähungserregern am zuträglichsten ist und daß Milchsäurefermente Blähungserreger überwuchern können, sofern Ueberzahl oder Temperatur dies gestatten. Man hätte somit bloß einen Milchsäurepilz zu züchten, der die Fähigkeit hätte, bei der hohen Temperatur, die der Käse unter der Presse noch hat, die Blähungserreger zu unterdrücken. Es wäre dieses eine schwierige, aber lohnende Aufgabe, falls sie sich lösen ließe.

v. Freudenreich (Bern).

Schulze, Beiträge zur Alinitfrage. (Landwirtschaftl. Jahrb. Bd. XXX. 1901. p. 319.)

Die Untersuchungen des Verf.'s bilden einen wertvollen Beitrag zu der noch immer nicht abgethanen Alinitfrage. Sie beleuchten eingehend das physiologische Verhalten des Alinitbakteriums einerseits in Kultur, andererseits im wichtigeren Vegetationsversuch. Bei Versuchen zur Kultivierung des im Alinit enthaltenen Mikroorganismus in stickstofffreien Nährlösungen trat niemals bemerkenswertes Wachstum oder nachweisbare Stickstoffassimilierung ein, letztere auch nicht bei üppigem Wachstum des

Alinitbacillus in stickstoffhaltigen Nährböden. Es ist dies ein mit den Ergebnissen der Krüger und Schneidewind'schen Versuche sich vollkommen deckendes Resultat.

Die Vegetationsversuche des Verf.'s sind mit allen erforderlichen Kautelen und unter Berücksichtigung der von Stoklasa, dem unermüdlischen Retter der stark geschädigten Ehre des Alinit's, angegebenen Versuchsbedingungen ausgeführt worden. Sie zerfallen in Versuche mit besonderen Vegetationsapparaten unter möglichst ausschließlicher Einwirkung des Alinitbacillus auf die Pflanzen, dann in Versuche mit offenen Vegetationsgefäßen der gewöhnlichen Art, also ohne Ausschluß der im Boden ohnehin enthaltenen Mikroorganismen, und schließlich in Versuche auf Freilandparzellen. Stets zeigte es sich nun in überzeugender Weise, daß der Alinitbacillus niemals einem etwa vorhandenen Stickstoffmangel abzuhelpen vermag, und daß er in keinem Falle „irgend eine in der deutlichen und zweifellosen Erhöhung der Ernte zum Ausdruck kommende Wirkung“ äußert, auch dann nicht, wenn die nach Stoklasa notwendigen Zusätze von Kohlehydraten zum Boden gegeben werden.

Die Arbeit enthält außerdem noch interessante Angaben über Erfahrungen bei der Desinfektion der zur „keimfreien“ Aussaat benutzten Getreidekörner, über die Einwirkung des Kohlehydratzusatzes auf die Ernteerträge etc., über welche im Original nachzulesen wäre.

Vogel (Posen).

Krüger, W. und Schneidewind, W., Zersetzungen und Umsetzungen von Stickstoffverbindungen im Boden durch niedere Organismen und ihr Einfluß auf das Wachstum der Pflanzen. [Mitteilung der bakteriologischen Abteilung der agrikultur-chemischen Versuchsstation Halle a. S.] (Landwirtschaftl. Jahrb. Bd. XXX. 1901. Heft 4. Mit 1 Tafel.)

Schon im zweiten Teile ihrer Arbeit über „Ursache und Bedeutung der Salpeterzersetzung im Boden“ hatten Verff. als Ursache der auch bei einem Feldversuche schädigenden Wirkung von frischem Kot und Stroh nicht nur die eigentliche Salpeterzersetzung angeführt, sondern auch die Eiweißbildung, welche auf Kosten der schon im Boden vorhandenen oder durch den Dünger dem Boden zugeführten Stickstoffformen vor sich geht.

Die im Jahre 1899 in der Versuchswirtschaft Lauchstädt ausgeführten Feldversuche wurden im Jahre 1900 fortgesetzt, um die Nachwirkung der 1899 verabfolgten Kot- und Stroh mengen festzustellen; eine frische Düngung von Kot und Stroh wurde also nicht wieder gegeben. Die Parzellen wurden wieder mit Senf bestellt. Zur ersten Senfernte wurde eine Salpeterdüngung nicht gegeben; dagegen erhielten sämtliche Parzellen zur zweiten Ernte eine gleichmäßige Salpeterdüngung von 1 Ctr. Chilesalpeter pro Morgen.

Zunächst stellen Verff. einen Vergleich an zwischen der Wirkung des Weizenstrohes im Jahre 1899 und der Wirkung desselben im Jahre 1900, was folgende Uebersicht erkennen läßt:

a) Weizenstroh gegen Ungedüngt.

			1899:			
I. Ernte	— 22,2	dz frische Substanz	— 4,2	dz Trockensubstanz	— 6,58	kg N
II. „	— 48,5	„ „	— 4,6	„ „	— 13,56	„ „
			Nachwirkung 1900:			
I. Ernte	— 35,0	dz frische Substanz	— 4,2	dz Trockensubstanz	— 12,77	kg N
II. „	+ 8,1	„ „	+ 0,5	„ „	+ 0,92	„ „

b) Weizenstroh + Salpeter gegen Salpeter.

			1899:			
I. Ernte	— 48,0	dz frische Substanz	— 4,6	dz Trockensubstanz	— 16,73	kg N
II. „	— 20,5	„ „	— 1,3	„ „	— 9,18	„ „
			Nachwirkung 1900:			
I. Ernte	— 18,6	dz frische Substanz	— 0,8	dz Trockensubstanz	— 8,01	kg N
II. „	+ 0,3	„ „	+ 0,4	„ „	+ 1,39	„ „

Demnach war bei den 3 ersten Ernten insgesamt pro Hektar auf den Strohparzellen weniger geerutet worden als auf den nicht mit Stroh gedüngten Parzellen:

a)	— 105,7	dz frische Substanz	— 13,0	dz Trockensubstanz	— 32,91	kg N
b)	— 87,1	„ „	— 6,7	„ „	— 33,92	„ „

Die infolge der Strohdüngung durch niedere Organismen zersetzten oder umgesetzten Salpetermengen betragen also in dem einen Falle 32,91, im anderen 33,92 kg N pro Hektar, also mehr als 1 Ctr. Chilisalpeter. Erreichten also die Salpeterverluste in Summa der 3 Ernten fast die gleiche Höhe, so verteilten sich diese Salpeterverluste auf die einzelnen Ernten so, daß bei der ersten Ernte die durch das Stroh hervorgerufenen Salpeterverluste bei gleichzeitiger Salpeterdüngung um 10,15 kg N größer als da waren, wo letztere unterblieben war; durch die beiden folgenden Ernten wurde jedoch dieser Unterschied wieder ausgeglichen, indem auf den Parzellen, welche zur ersten Ernte eine Salpeterdüngung nicht bekommen hatten, die Salpeterverluste um 9,14 kg N größer waren als auf den zur ersten Ernte mit Salpeter gedüngten Parzellen. Diese Erscheinung erklären Verff. damit, daß sie durch die den Versuchen voraufgegangene Ernte den Boden so salpeterarm gemacht hatten, daß da, wo mit Salpeter nicht gedüngt worden war, die frische organische Substanz nur zu einem kleinen Teil ihren schädigenden Einfluß auszuüben vermochte, und zwar deshalb, weil das untergegrabene Stroh in der unteren Bodenschicht nur mit dem dort vorhandenen oder in diese Schicht durch den Regen hineingewaschenen Salpeter in Berührung kam. Auf den mit Salpeter gedüngten Parzellen stand dagegen den Organismen mehr Salpeter zur Verfügung, so daß sie hier mehr Salpeter zersetzen oder diesen in Eiweiß umsetzen konnten, und je mehr Stickstoffverbindungen den Organismen geboten werden, desto schneller können sie die ihnen zur Verfügung stehende Kohlenstoffquelle ausnutzen, mit anderen Worten desto schneller wird das Stroh verrotten. So kommt es wohl, schließen Verff., daß auf den salpeterarmen Parzellen nach der ersten Ernte mehr unzersetztes Stroh zurückgeblieben war als auf den mit Salpeter gedüngten Parzellen, und daß dieses nun bei der zweiten und dritten Ernte schädigender wirkte als das mehr zersetzte Stroh der Salpeterparzellen.

Außerdem zeigen obige Zahlen, daß das Stroh erst bei der zweiten Ernte des zweiten Versuchsjahres, also erst nach mehr als einem Jahre, positiv zu wirken anfängt.

Des weiteren besprechen Verff. die Wirkung von Kuhkot und Pferdekot. Die Ergebnisse waren hier folgende:

a) Kuhkot gegen Ungedüngt.

			1899:				
I. Ernte	—	0,8 dz frische Substanz	—	0,1 dz Trockensubstanz	—	1,38 kg N	
II. "	—	11,7 " "	"	0,5 " "	—	0,45 " "	
			Nachwirkung 1900:				
I. Ernte	+	15,3 dz frische Substanz	+	1,8 dz Trockensubstanz	+	5,07 kg N	
II. "	+	10,7 " "	"	0,3 " "	+	5,09 " "	

b) Pferdekot gegen Ungedüngt.

			1899:				
I. Ernte	+	6,6 dz frische Substanz	+	1,0 dz Trockensubstanz	+	1,60 kg N	
II. "	—	32,5 " "	"	2,7 " "	—	5,11 " "	
			Nachwirkung 1900:				
I. Ernte	+	27,3 dz frische Substanz	+	3,1 dz Trockensubstanz	+	9,56 kg N	
II. "	+	6,3 " "	"	0,8 " "	+	2,34 " "	

Zwischen den Kotarten und dem Stroh ist nun der Unterschied wohl zu beachten, daß mit dem letzteren dem Boden lösliche Stickstoffverbindungen nicht zugeführt wurden, während mit den ersteren größere oder kleinere Mengen löslicher Stickstoffverbindungen in den Boden gelangten, welche bei der Frage über die Zer- und Umsetzung der löslichen Stickstoffverbindungen berücksichtigt werden mußten. Nach der Berechnung, welche Verff. in ihrer Arbeit ausführen, wurden dem Boden durch den Kuhkot 30,0 kg N, durch den Pferdekot 48,3 kg N pro Hektar in leicht aufnehmbarer Form zugeführt. Da nun diese Stickstoffmengen in der Ernte nicht zum Vorschein gekommen sind, so müssen sie den Senfpflanzen durch niedere Organismen entzogen worden sein.

Wie weiter aus vorstehenden Zahlen hervorgeht, hatte der Pferdekot bei der ersten Ernte im Gegensatz zum Kuhkot eine positive Wirkung, was Verff. damit begründen, daß durch ihn eine größere Menge von löslichen Stickstoffverbindungen dem Boden zugeführt war als mit letzterem. Erst bei der zweiten Ernte wurde durch den Pferdekot eine Erniedrigung des Erntegewichtes und des Stickstoffgehaltes des Senfs hervorgerufen. Die Nachwirkung der beiden Kotarten war eine positive; denn durch die beiden Kotarten wurde im zweiten Jahre mehr geerntet:

a) durch den Kuhkot:	+	26,0 dz frische Subst.	+	2,1 dz Trockensubst.	+	10,16 kg N
b) " " Pferdekot:	+	33,6 " "	"	2,3 " "	+	11,90 " "

Werden hiervon die im ersten Jahre durch die Kotarten bewirkten Minderernten abgezogen, so bleiben:

a) zu Gunsten des Kuhkotes:	+	13,5 dz frische Substanz	+	1,5 dz Trockensubstanz	+	8,33 kg N
b) " " " Pferdekotes:	+	7,7 dz frische Substanz	+	0,6 dz Trockensubstanz	+	8,39 kg N

Das sind, führen die Verff. aus, beachtenswerte Stickstoffmengen, verschwindend klein aber im Vergleich zu den Stickstoffmengen, welche dem Boden durch die Kotarten zugeführt wurden; denn es wurden nur aufgenommen:

beim Kuhkot: 4,2 Proz. des Gesamt-N

„ Pferdekot: 3,1 „ „ „

Um die weitere Nachwirkung der Kotarten festzustellen, werden die Versuche fortgesetzt werden.

Schließlich zeigen Verff. durch Versuche, daß die volle Strohdüngung nachhaltiger schädigend auf die Stickstoffentnahme gewirkt hatte als das Kotstrohgemisch, welches nur halb soviel Stroh enthielt als die volle Strohdüngung, dazu die löslichen Stickstoffverbindungen des Kotes. Wenn das Kotstrohgemisch bei den beiden ersten Ernten die Stickstoffentnahme ebenso vermindert hatte als die volle Strohdüngung, so hatte dies seinen Grund darin, daß, wie oben schon angeführt, Salpeter vorhanden war, daß das Stroh gleich bei der ersten Ernte seine volle schädigende Wirkung ausüben konnte.

Hierauf gehen Verff. zur Beantwortung folgender Frage über: „Wird nun den Pflanzen vorzugsweise der Stickstoff infolge einer Salpeterzerersetzung zu freiem Stickstoff oder vorzugsweise dadurch entzogen, daß die löslichen Stickstoffverbindungen durch niedere Organismen in unlösliche Stickstoffverbindungen übergeführt werden?“ Sie sind der Ansicht, daß die Umstände, unter denen sich diese Prozesse abspielen, dafür maßgebend sein werden, inwieweit diese beiden Vorgänge zur Geltung kommen, und welche Bedeutung jedem derselben im gegebenen Falle zuzusprechen ist. Zur Aufklärung in dieser Frage, für deren Beantwortung bei Vegetationsversuchen noch sehr wenige, bei Feldversuchen gar keine Anhalte vorliegen, tragen Verff. durch Versuche bei.

Zunächst geben Verff. einen Vegetationsversuch wieder, bei welchem die Wirkung eines Kotstrohgemisches auf verschiedene Stickstoffformen, nämlich Salpeter, schwefelsaueres Ammoniak, Asparagin, Blutmehl und Harnmehl, geprüft wurde. Hierbei ergab sich, daß bei der Salpeterdüngung den Pflanzen durchaus nicht die größten Stickstoffmengen entzogen wurden. Während die niederen Organismen infolge der Kotstrohdüngung die Stickstoffaufnahme bei der Salpeterdüngung nur um 0,479 g N reduzierten, ging z. B. die Stickstoffaufnahme bei der Asparagingabe infolge der Kotstrohdüngung um 0,705 g N zurück. Verff. geben mit Recht der Ansicht Ausdruck, daß diese Zahlen dafür sprechen, daß hier die Eiweißbildung in den Vordergrund getreten ist und begründen dies stichhaltig.

Durch in der Versuchswirtschaft Lauchstädt ausgeführte Versuche weisen sie zahlenmäßig nach, welche bedeutenden Mengen von Eiweiß in den natürlichen Düngerhaufen gebildet werden. Die Eiweißmengen hatten sich hiernach im Tiefstalldünger, auf der überdachten Düngerstätte und auf der offenen Düngerstätte beim Lagern des Düngers verdoppelt, was auch aus folgenden Zahlen evident ersichtlich ist:

	Ursprüngliche Eiweißmenge	Eiweißmenge nach dem Lagern des Düngers
Tiefstalldünger	120,87 kg	265,60 kg
Überdachte Düngerstätte	120,92 „	205,70 „
Offene Düngerstätte	120,92 „	227,80 „

Vom verlorenen Harnstickstoff waren in Eiweiß umgewandelt im Tiefstalldünger 70,1 Proz., im Dünger auf der überdachten Düngerstätte 33,0 Proz., auf der offenen Düngerstätte 37,9 Proz.

Von dem nicht in Form von Eiweiß wiedergefundenen Harnstickstoffe glauben die Verf. nach ihren Erfahrungen annehmen zu müssen, daß er zum weitaus größten Teile in Form von Ammoniak verloren gegangen ist; es sind also weitaus größere Mengen von Harnstickstoff in Eiweiß umgewandelt worden als in Form von freiem Stickstoff verloren gegangen.

Nach der Verf. Ansicht ist diese Eiweißbildung, auf die sie schon im Journal für Landwirtschaft, 1897. p. 187 hingewiesen haben, auch ganz natürlich; denn es sei den niederen Organismen in Form von Harn oder den aus dem letzteren entstandenen löslichen Stickstoffverbindungen eine ihnen zusagende Stickstoffquelle geboten, welche sie zum Aufbau ihrer Körper naturgemäß verwerteten. An dieser, so in der Natur vor sich gehenden Eiweißbildung seien natürlich nicht nur die eigentlichen denitrifizierenden Bakterien beteiligt, sondern auch alle anderen Mikroorganismen, besonders auch die Schimmelpilze. Trotzdem nun Verf. die Bedeutung der Eiweißbildung erkannt und wohl zuerst auf eine solche Eiweißbildung, wie sie infolge einer Düngung mit frischen organischen Substanzen hervorgerufen wird, aufmerksam gemacht haben, haben sie, worauf sie in ihrer neuesten Arbeit ausdrücklich hinweisen, aus bestimmten Rücksichten in ihren Arbeiten die Bezeichnung „Salpeterzersetzung oder Denitrifikation“ beibehalten, jedoch in ihren Arbeiten andererseits wiederholt der Bezeichnung Salpeterzersetzung Salpeterumsetzung oder Umsetzung der löslichen Stickstoffverbindungen hinzugefügt. Verf. haben nun inzwischen weitere Versuche nach dieser Richtung angestellt, mit welchen sie gleichzeitig die Frage der Salpeterbildung zu verbinden suchten. Sie setzten einem Teil der mit Salpeter gedüngten Gefäße Glycerin und Weizenstärke zu und verfahren dabei, wie folgt: 6500 g eines frischen humosen Lehmbodens = 6000 g Trockensubstanz wurden einerseits in üblicher Weise in mit Steinen auf gleiches Gewicht gebrachte Vegetationsgefäße, andererseits in große emaillierte Töpfe gebracht. Dadurch wollten Verf. feststellen, ob sich die fraglichen Vorgänge bei der letzten Aufbewahrungsmethode der Erde ebenso vollziehen als in den Vegetationsgefäßen. Die Versuche dauerten vom März bis September 1900.

Das Ergebnis der Versuche war folgendes.

Zu Anfang des Versuches:

0,005 Proz. Salpeter-N	=	0,325 g Salpeter-N pro Gefäß
0,160 „ Gesamt-N	=	10,400 „ Gesamt-N

Nachstehende Zahlen (s. Tabelle p. 935) zeigen zunächst, daß in den nur mit Salpeter gedüngten Gefäßen die ganze Menge des zugesetzten Salpeters entsprechend 2 g N erhalten geblieben war, während in den mit Glycerin gedüngten Gefäßen große Salpeterverluste eingetreten waren, indem ein Teil des Salpeters, nämlich in den Salpetergefäßen 40 Proz. Salpeter-N und in den Töpfen 65 Proz. Salpeter-N, verschwunden war. Daß nun dieser verschwundene

Nach Ablauf des Versuches:

Düngung	Erde g	Gesamt-N		Salpeter-N	
		Proz.	g	Proz.	g
a) Vegetationsgefäße.					
Ohne N ¹⁾	6230	0,166	10,342	0,018	1,121
2 g N-Salpeter	6250	0,195	12,188	0,052	3,250
2 g N-schwefelsaures Ammoniak	6270	0,195	12,227	0,045	2,822
2 g N-trockenes verrottetes Pferdekot-Stroh-gemisch	6390	0,191	12,205	0,024	1,533
2 g N-Salpeter + 50 g Glycerin	6280	0,195	12,247	0,039	2,449
b) Töpfe.					
Ohne N	6099	0,168	10,245	0,021	1,281
2 g N-Salpeter	6166	0,198	12,209	0,054	3,329
2 g N-schwefelsaures Ammoniak	6153	0,199	12,244	0,043	2,720
2 g N-trockenes verrottetes Pferdekot-Stroh-gemisch	6327	0,194	12,274	0,025	1,582
2 g N-Salpeter + 50 g Glycerin	6143	0,200	12,286	0,033	2,027

Salpeter nicht zu elementarem Stickstoff zersetzt, sondern in Eiweiß umgesetzt worden war, geht aus den Gesamtstickstoffbestimmungen hervor; denn es zeigen die Gefäße, welche nur Salpeterdüngung erhalten hatten, keinen höheren Stickstoffgehalt als die, welche außerdem Glycerin enthielten, und es enthielten die letzteren auch nach Abschluß des Versuches noch 2 g N mehr als die ungedüngten Gefäße, d. h. diejenige Menge, welche dem Boden durch die Salpeterdüngung zugeführt worden war.

Das beweisen nachstehende von Verff. ermittelte Zahlen:

Düngung	Vegetationsgefäße	Töpfe
2 g Salpeter-N	12,188 g Gesamt-N	12,209 g Gesamt-N
2 g Salpeter-N + Glycerin	12,247 g	11,286 g
Ohne N	10,342 g	10,245 g
Salpeter + Glycerin gegen Ohne N	1,905 g Gesamt-N	2,041 g Gesamt-N

Unter den bei jenen Versuchen obwaltenden Verhältnissen ist demnach sämtlicher infolge von Glycerindüngung verschwundene Salpeter in Eiweiß umgewandelt worden. Ebenso haben die Verff. festgestellt, daß bei Versuchen mit Weizenstärke sämtlicher verschwundener Salpeter in Eiweiß umgewandelt wurde.

Es geht weiterhin aus den Versuchsergebnissen hervor, daß eine kräftige Salpeterbildung stattgefunden hatte.

	Salpeter-N Proz.	Salpeter-N g
Erde vor dem Versuch	0,005	0,325
„ nach dem Versuch: a) Vegetationsgefäß	0,018	1,121
„ „ „ b) Töpfe	0,021	1,281

Es hatte also die Salpetermenge sich ungefähr vervierfacht.

Verff. führen im Anschluß an diese Ergebnisse an, daß sie eine derart starke Salpeterbildung schon früher in einem großen, auf einem festen Untergrund in überdachtem Schuppen lagernden Haufen Erde (humoser Lehmerde) konstatieren konnten:

1) Alle Gefäße erhielten die übliche Grunddüngung mit P_2O_5 , K_2C und CaO .

	Salpeter-N Proz. der Trockensubstanz	Salpeter-N g in 6000 g trockener Erde
1897 März	0,004	0,240
1898 „	0,034	2,040
1898 Juni	0,035	2,100

Diese Erde, welche 1897 sehr stark auf eine Salpeterdüngung reagierte, zeigte 1898 eine N-Reaktion nicht mehr, und eine weitere Düngung mit Salpeter war für das Wachstum der Pflanzen geradezu schädlich. Eine der Arbeit beigegebene, nach einer photographischen Aufnahme hergestellte Abbildung zeigt sehr deutlich das schwache Wachstum von Hafer in einem dem Felde frisch entnommenen Boden und das üppige Wachstum desselben in einem demselben Felde entnommenen Boden, der 1 Jahr lang in der vorhergehend angegebenen Weise gelagert hatte. Es veranschaulicht also der letztere Versuch mit Hafer die Wirkung einer idealen Brache.

Schließlich beweisen Verf. noch die hochwichtige Thatsache zahlenmäßig, daß bei einer Ammoniakdüngung auch ohne frischen organischen Dünger ein Teil des Ammoniaks in Eiweiß umgewandelt, durch niedrigere Organismen, für welche das schwefelsaure Ammoniak im allgemeinen eine weit bessere N-Quelle ist als der Salpeter, zunächst den Pflanzen entzogen wird, was bei der Salpeterdüngung unter gleichen Verhältnissen nicht der Fall ist. Nach der Verf. Ansicht ist es auf diese Weise wohl zu erklären, daß aus dem Salpeter, wenn derselbe nicht ausgewaschen wird, von den Pflanzen, besonders solchen mit kurzer Vegetationszeit, größere Stickstoffmengen aufgenommen werden, als aus dem schwefelsauren Ammoniak.

Den Schluß ihrer Arbeit bildet ein zusammenfassender Rückblick auf die durch ihre zahlreichen Versuche festgestellten interessanten Thatsachen.

Bruhne (Halle a. S.).

Stoklasa, Ueber die Nitratgärung und ihre Bedeutung in den biologischen Prozessen des Bodens. [Vortrag auf der 73. Versammlung der Naturforscher und Aerzte in Hamburg.] (Deutsche landwirtschaftliche Presse. 1901. No. 79 und 81.)

An der Umsetzung der Nitrats im Boden sind zwei Klassen von Mikroorganismen beteiligt, und zwar 1) solche, welche unter geeigneten Bedingungen das Nitrat bis zu elementarem Stickstoff reduzieren, und 2) solche, welche die Reduktion bis zum Ammoniak durchführen. Die Entfaltung dieser Eigenschaften hängt wesentlich von der Zusammensetzung des Nährmediums, vor allem von der Art der Kohlenstoffquelle ab, wird aber noch von einer Anzahl anderer Faktoren beeinflusst. Die erste Gruppe bewirkt also die eigentliche Nitratgärung, die zweite nur eine Ammonisation des Nitrates. Als Zwischenprodukt entsteht in allen Fällen salpetrige Säure, die sich nur bei sehr stürmischer Nitratgärung nicht nachweisen läßt, und es erfolgt Festlegung eines Teiles des Stickstoffes in Form von Eiweiß.

Durch eine Anzahl von Beobachtungen ist Stoklasa nun zu der Ansicht gelangt, daß die bei der Nitratgärung beteiligten

Mikroorganismen als Produkte intramolekularer Atmung Alkohol und Kohlensäure bilden, und daß ganz allgemein bei jeder Gärung, „bei welcher verschiedene Alkohole entstehen (Aethyl-, Buthyl-, Propylalkohol), in Gegenwart von salpetersauerer oder salpetriger-sauerer Salzen elementarer Stickstoff gebildet wird“. Die Menge des gebildeten Stickstoffes oder Ammoniaks hängt ab 1) von der Energie der Gärung und 2) von dem Verhältnis des Nitrates zu dem entstandenen Alkohol. Ist dieses Verhältnis derart, daß 2 Moleküle salpetrige Säure auf 1 Molekül Alkohol einwirken, dann entsteht elementarer Stickstoff (Nitratgärung), entfällt nur 1 Molekül salpetriger Säure auf 1 Molekül Alkohol, so bildet sich Ammoniak (Ammonisation der Nitrate). Des weiteren gelangt Verf. zu der Auffassung, daß der bei der Nitratgärung gebildete Stickstoff eine besondere, wirksame, aktive Form darstelle, welche von einzelnen Bakterienarten leicht assimiliert werden kann, auch wenn diese sich gegen gewöhnlichen Luftstickstoff indifferent verhalten, „daß also nicht der Luftstickstoff, sondern der freie Stickstoff, welcher bei den Denitrifikationsprozessen entsteht, von den Bakterien assimiliert werden kann“.

Ob die Untersuchungen des Verf.'s deren eingehende Schilderung in einem Vortrage ja nicht erwartet werden kann, thatsächlich zu solch weitgehenden Schlüssen berechtigen, muß abgewartet werden, um so mehr, da neben dem *Bac. radicularis* der besondere Schützling Stoklasa's, das Alinitbakterium, die Assimilation dieses „aktiven Stickstoffes“ in hohem Grade bewirken soll.

Vogel (Posen).

Duggar, B. M., Physiological studies with reference to the germination of certain fungous spores. (Bot. Gazette. Vol. XXXI. 1901. p. 38.)

Von den zahlreichen Angaben über die Bedingungen der Sporenceimung heben wir nur folgende hervor:

Von rein saprophytisch lebenden Pilzen ist *Oedocephalum albidum* der einzige, der auf reinem Wasser reichlich zu keimen vermag. Auf Bohnendekokt keimen Hymenomycetensporen im allgemeinen nicht; eine Ausnahme macht *Coprinus micaceus*. — Glycerin befördert bei manchen Pilzen die Keimung. — Kalium ist keineswegs immer unentbehrlich: eine vom Verf. untersuchte *Botrytis* z. B. keimt schnell auf reinem Wasser. Auch bedingt der Zusatz von Kalium keine merkliche Beschleunigung der Keimung (*Phycomyces*, *Penicillium*).

Von den chemischen Agentien, welche die Keimung befördern, nennt Verf. zunächst Paraffin. Sporen von *Aspergillus flavus* keimten auffallend gut in destilliertem Wasser, das in Flaschen mit Paraffinverschluß aufbewahrt gewesen war. — Auf andere Pilze blieb Paraffin ohne Wirkung (*Penicillium*, *Phycomyces*). Als weitere stimulierende Mittel werden Aether, Kampher, und andere genannt. In einem Falle wurden für die Salzsäure ähnliche Wirkungen konstatiert. Es folgen Angaben über die Wirkungen von Säuren, Kupfer- und Eisensalzen.

Die vom Verf. angestellten Versuche betreffend den Einfluß physikalischer Agentien (Oberflächenspannung, Verdunstung etc.) auf die Keimung führten zu wenigen positiven Resultaten. — Es folgen Angaben über Temperaturmaximum und -optimum und über den Einfluß des Gasdruckes. Erst bei einer Verminderung des Druckes auf 40 mm konstatierte Verf. eine merklche Verzögerung der Keimung.

Sporen, die bereits in Wasser keimen, werden durch Zusatz von Nährlösungen in ihrer Keimung oft gehemmt. *Ustilago avenae* und *U. perennans* keimen schlecht in 1-proz. Pepton.

Die folgenden Abschnitte über die Ruheperiode der Pilzsporen und anderer bringen wenig Neues von allgemeinem Interesse. Besonders verwiesen sei noch auf Tabelle VII, die den Einfluß von Nährlösungen verschiedener Konzentration veranschaulicht.

Küster (Halle a. S.).

Peglion, V., Ueber den Parasitismus der *Botryosporium*-Arten. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XI. Heft 2/3. p. 89—92.)

Auf den Blättern auffallend zurückgehender Weizenpflanzen, die in dichter Saat im Topfe gezogen wurden, fand Verf. ein *Botryosporium*, welches Saccardo als *B. pulchrum* bestimmte. Da vor kurzem erst Jaczewski *Botryosporium diffusum* als Erreger einer Krankheit von *Casuarina leptoclada* beschrieb, sucht Verf. die beiden Arten in ihrem Verwandtschaftsverhältnisse näher kennen zu lernen und kommt dabei zu der Annahme, daß *B. pulchrum* und *B. diffusum* wohl nur Formen einer einzigen Art darstellen. Zur Ergänzung der nicht ausreichenden Corda'schen Diagnose giebt Verf. eine ausführliche Beschreibung des von ihm beobachteten Pilzes.

Infektion völlig gesunder Weizenblätter gelang jedoch selbst in der feuchten Kammer nicht, weshalb P. die Fundpflanzen näher auf etwaige mitwirkende Einflüsse untersuchte und fand, daß sämtliche erkrankte Pflanzen mehr oder weniger durch *Tylenchus devastatrix* angegriffen waren. Er kommt daher zu dem Schlusse, daß *B. pulchrum* sich nur auf Pflanzenorganen entwickeln kann, welche bereits von anderen Ursachen benachteiligt wurden.

Appel (Charlottenburg).

Pierce, N. B., Walnut bacteriosis. (Bot. Gazette. Vol. XXXI. 1901. p. 272.)

Eine in Kalifornien beobachtete Krankheit der Walnußbäume wird von einem bisher unbekanntem Mikroorganismus veranlaßt, den Verf. als *Pseudomonas Juglandis* beschreibt. Früchte, Blätter und jugendliche Zweige werden von ihm infiziert, in der Markhöhle und in abgefallenen Früchten überwintert er. Seine Kultur gelingt auf verschiedenen Nährmedien, alkalische Reaktion hemmt sein Wachstum; Kartoffelstärke wird von ihm gelöst.

Küster (Halle a. S.).

Life, A. C., The tuber-like rootlets of *Cycas revoluta*. (Bot. Gazette. Vol. XXXI. 1901. p. 265.)

Aus den knöllchenähnlichen Luftwurzeln von *Cycas revoluta*, deren Anatomie Verf. beschreibt, wurden verschiedene Bakterien isoliert.* Sie sollen nach Verf. Ernährungsstörungen veranlassen und Zerreißen des Gewebes verursachen. Die so entstandenen Lücken werden später von den bekannten Blaualgen besiedelt. — Verf. spricht zum Schlusse die Vermutung aus, daß die von Algen bewohnten Luftwurzeln zur Assimilation des Stickstoffes in Beziehung stehen könnten. Küster (Halle a. S.).

Zielinski, Z. und Ostaszewski, Eden, Ueber das Auftreten des *Eurycreon sticticalis* L. in Rußland. (Gazeta Cuklowicza. 1901. p. 418; siehe auch: Oesterr.-ungar. Zeitschr. f. Zuckerindustrie u. Landwirtschaft. 1901. p. 842.)

In den Gouvernements Podolien, Kiew, Wolhynien, Czernickow und Tombow sind Mitte Juli 1901 die Raupen des Zünslers, *Eurycreon sticticalis* L., in ungeheuren Mengen auf Zuckerrübenfeldern aufgetreten und manche vollständig vernichtet. In allgemeinen schätzt man auf den befallenen Aeckern eine Ertragsverminderung von 30—50 Proz. Die Raupen treten in einer solchen Menge auf, daß man auf einer Rübe 200—500 Stück, auf Samenrüben bis 2000 Raupen zählen konnte. Der Schmetterling hat eine Länge von ungefähr 12 mm und eine Spannweite von 30 mm; der Kopf ist mit weißen Schuppen bedeckt; die Augen sind dunkel und erhaben, die Fühler schwarz und 13 mm lang. Die Vorderflügel sind gelb, mit einem perlenartigen Schimmer und werden von 2 dunklen, fleckigen Streifen durchzogen; die Hinterflügel sind graubraun. Die Raupe ist grauschwarz, hat einen kleinen Kopf und besitzt 4 grünlich-gelbe Längsstreifen; der Körper ist mit zahlreichen, ganz kleinen Warzen bedeckt, aus welchem je ein schwarzes Härchen herauswächst. Die Raupe erreicht eine Länge von 15 mm. Die Puppe ist ungefähr 12 mm lang, hellbronzefarbig mit langen, deutlich erkennbaren, künftigen Fühlern. In einem Jahre bilden sich 2—3 Generationen. Die Raupen sind vor der Verpuppung sehr unruhig und wandern oft 3—4 Tage zwischen 10 Uhr vormittags und 3 Uhr nachmittags in einer Richtung fort, bis sie endlich einen für die Verpuppung passenden Ort gefunden haben. In einer Tiefe von 4—8 cm bauen sie sich dann aus Erde einen Cocon, den sie inwendig mit einer festgeschlossenen Gespinstschicht von weißer oder gelber Farbe auspolstern. Diese Cocons haben ein schwarzes, cylinderförmiges Aussehen und nach 4 Wochen entwickeln sich aus denselben die Schmetterlinge. Die erste Raupengeneration erscheint jetzt in der Regel auf Unkräutern, wie Melde, Gänsefuß, Winde, Kornblume, Tausendschön u. a., und geht dann erst von diesen auf die angebauten Rüben über. Im übrigen ist aber die Raupe gar nicht wählerisch und liebt sie auch Pflanzen mit einem starken Geruch, wie *Hyssopus officinalis* und *Salvia*, bittere Pflanzen, wie Wermut (*Artemisia*) und sogar Giftpflanzen, wie Wolfsmilch (*Euphorbia*). Gramineen werden nur im äußersten Falle ange-

griffen. Die Naturhölzer werden sämtlich befallen, von Gartenbäumen in erster Linie Weichsel-, Pflaumen-, Aepfel- und Birnbäume; am seltensten werden Pappeln und der sibirische Erbsenbaum (*Caragana*) aufgesucht. Erbsen, Fisolen, Erdäpfel, Hanf, Luzerne und Rüben werden gänzlich kahl gefressen; bei Rüben nicht nur die Blätter, sondern auch Teile der Rübenköpfe.

Die Bekämpfung dieses gefährlichen Schädling's richtet sich gegen den Schmetterling, die Raupe und die Puppe. Der Schmetterling wird durch Fangkörbe gefangen, durch Rauchfeuer vertrieben wie durch Anzünden benachbarter Stoppelfelder während der Nacht vernichtet. Solange die Raupen in ihrer unmittelbaren Nähe genug Nahrung finden, bleiben sie an einem Orte ruhig sitzen; bei Nahrungsmangel beginnen sie dann von 9 Uhr früh bis 3 Uhr nachmittags ihre Wanderungen in einer Richtung, von der man sie dadurch ablenken kann, wenn man längs des bedrohten Feldes mit einer Rübenwalze lang auf- und abfährt. Fanggräben haben sich ebenfalls bewährt. Samenrüben können dadurch geschützt werden, daß man sie mit durch Teer bestrichenen Gelden umgiebt. Bei trockenem Wetter empfiehlt sich eine Besprengung mit 6-proz. Chlorbaryumlösung, welcher etwas Melasse zugefügt wird. Leichter zu bekämpfen als Schmetterling und Raupe ist die Puppe. Wie bereits erwähnt, so bauen sich die Raupen in der Erde einen Cocon und gelangt der Schmetterling durch die Oeffnung desselben ins Freie. Wird nun diese Oeffnung mit Erde bedeckt, so muß der Schmetterling zu Grunde gehen. Zur Vernichtung der Puppen wird das Rübenfeld kurz nach dem Verkriechen der Raupen entweder mit der Hand behackt oder umgepflügt. Die Puppen, die dadurch nicht direkt vernichtet oder verschüttet werden, gelangen an die Oberfläche und gehen unter der Einwirkung der Sonnenstrahlen zu Grunde. Wenn sich der Schmetterling vor Winterbeginn auf Luzerne- und Kleefeldern einpuppt, so ist es am besten, denselben einzuackern. Felder, die nicht behackt werden können, sollen flach gepflügt und sodann gewalzt werden. Da die Raupen auch die Kadaver der eigenen Art fressen, die in der Regel infiziert sind, so liegt darin ein natürlicher Schutz gegen eine übermäßige Ausbreitung des Schädling's. Eine eventuelle dritte Generation kann im Herbst durch frühe Fröste leicht vernichtet werden. (Der noch wenig bekannte Rübenschädling ist außer in Rußland auch in Rumänien und in Oesterreich (Bukowina) aufgetreten und hat hier ebenfalls einen ganz bedeutenden Schaden angerichtet. Der Ref.)

Stift (Wien).

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Beauverie, J., Essai d'immunisation des végétaux contre les maladies cryptogamiques. (C. r. hebdom. de l'acad. d. sc. T. CXXXIII. Paris 1901. p. 107.)

Aehnlich wie Ray (Rev. gén. de Botanique. 1901) kürzlich

wahrscheinlich zu machen suchte, daß sich auch Pflanzen nach denselben Prinzipien wie Menschen und Tiere immunisieren ließen, bemüht sich auch Beauverie um diesen Nachweis mit geringem Erfolg. Verf. züchtete auf sterilisiertem Boden *Botrytis cinerea* in einer Form, die zwischen der conidienreichen und der conidienfreien („toile“) die Mitte hielt. Auf dem reichlich infizierten Boden wurden später Stecklinge von *Begonia* gezogen, die der *Botrytis* nicht zum Opfer fielen. Verf. nimmt an, daß die im Boden durch die *Botrytis* entstandenen Stoffe die *Begonien* „immun“ gemacht haben. Küster (Halle a. S.).

Sanderson, D. and Pensey, C., Hydro-cyanic-acid gas as an insecticide on low-growing plants. (U. S. Dept. of Agric. Div. of Entom. Bull. No. 26. New Ser. 1900. p. 60—66.)

Zur Ausräucherung einzelner niedriger Nutzpflanzen (z. B. Melonen, Kohlstauden u. dergl.) mit Blausäure benutzten die Verff. mit Erfolg folgende einfache Vorkehrung: Aus starkem Papier in einem Stück in Form 4-seitiger Pyramiden gefertigte Stülpen von 8 Zoll Höhe wurden in einem Holzrahmen von 3 Zoll Höhe und 20 Zoll Geviertseite befestigt, so daß letzterer als Boden dient. Seine untere Kante ist scharf zugeschnitten, um das Ganze fest in die Erde drücken zu können. Die Gaserzeugung geschieht so, daß ein Glasröhrchen von 8 ccm Inhalt mit 50-proz. Cyankalilösung gefüllt und umgekehrt in eine Flasche von 8mal so großem Inhalte eingeführt wird, die mit 8 ccm Schwefelsäure beschickt wurde. Letztere Flasche muß im Boden befestigt sein und das Ganze schleunigst mit der Papierstülpe bedeckt werden. Die Dauer von 10 Minuten genügt zur Einwirkung. — Um wertvollere Pflanzen in Reihen zu desinfizieren, wird die Benutzung eines Daches von 15 Fuß Länge, 8 Zoll Höhe und 20 Zoll Bodenbreite empfohlen. Die zur Erzeugung des nötigen Volumens Gas erforderliche Menge Cyankali wird nach den Untersuchungen der Verff. aus folgender Formel ermittelt: Wenn x die Höhe in Fuß bedeutet, so verwende man $2 + \frac{1}{x}$ dcg Kaliumcyanid. — Ref. vermißt eine Berücksichtigung der Frage, ob und wie weit etwa eine Aufnahme von Blausäure in das Gewebe der behandelten Pflanzen stattfindet.

Jacobi (Berlin).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. ARTHUR WÜRZBURG,
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Eyre, J. W. H., A new centrifuge for bacteriological work. (Brit. med. Journ. 1901. No. 2125. p. 773—774.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

- Barone, V.**, Su alcune sostanze estratte dai corpi bacterici. (*Policlinica*, 1901. 2. marzo.)
- Bericht über die Thätigkeit der Hefereinzuchtstation in Geisenheim a. Rh. im Essensjahre 1899/1900. (Mitteil. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. 1901. No. 7, 8, 9. p. 1:5—119, 139—142.)
- Bokorny, Th.**, Gärungsferment und intramolekulare Atmung. (*Naturwissenschaftl. Wechschr.* 1901. No. 37. p. 429—431.)
- Brandes, G.**, Die Begattung der Hirudineen. (Aus: *Abhandl. d. naturf. Gesellsch. zu Halle.*) gr. 8°. 20 p. m. 9 Fig., 1 Taf. u. 1 Bl. Erklärgn. Stuttgart (Schweizerbart) 1901. 0,90 M.
- Calamida, D.**, Ulteriori ricerche sul veleno delle tenie. (*Riforma med.* 1901. No. 181. p. 364—365.)
- Deherain, P. P. et Dupont, C.**, Sur les fermentations des matières azotées qui arrivent au fumier. (*Annal. agronom.* 1901. No. 9. p. 401—427.)
- Duclaux, E.**, Traité de microbiologie. Tome IV. 8°. Paris (Masson & Cie.) 1901. 15 fr.
- Houard, C.**, Sur quelques zococéidies nouvelles récoltées en Algérie. (*Rev. génér. de botan.* 1901. No. 145. p. 33—43.)
- Kling, A.**, Oxydation du propylglycol par le *Mycoderma aceti*. (*Compt. rend. de l'Acad. d. scienc. T. CXXXIII.* 1901. No. 4. p. 231—233.)
- Lindner, P.**, Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben mit einer Einführung in die technische Biologie, Hefenreinkultur und Infektionslehre. Für Studierende u. Praktiker bearb. 3. Aufl. Mit 229 Textabbildgn. u. 4 Taf. gr. 8°. XII, 468 p. m. 2 graph. Tab. u. 2 Bl. Erklärgn. Berlin (Paul Parey) 1901. 17 M.
- Maassen, A.**, Die Zersetzung der Nitrate und der Nitrite durch die Bakterien. (Ein Beitrag zum Kreislauf des Stickstoffes in der Natur.) (Arb. a. d. kaiserl. Gesundh.-A. Bd. XVIII. 1901. Heft 1. p. 21—77.)
- Messineo, G. e Calamida, D.**, Sul veleno delle tenie. [*Ricerche sperimentali.*] (*Riforma med.* 1901. No. 165. p. 171—173.)
- Mouton, H.**, Sur les diastases intracellulaires des Amibes. (*Compt. rend. de l'Acad. d. scienc. T. CXXXIII.* 1901. No. 4. p. 244—246.)
- Mouton, V.**, Quatrième notice sur des ascomycètes nouveaux ou peu connus. (*Bullet. de la soc. roy. de botan. de Belgique.* 1900. p. 37—53.)
- Nicolle, M.**, Grundzüge der allgemeinen Mikrobiologie. Deutsch von H. Dünsehermann. gr. 8°. VII, 305 p. m. Fig. Berlin (August Hirschwald) 1901. 5 M.
- Plato, J. u. Guth, H.**, Ueber den Nachweis feinerer Wachstumsvorgänge in Trichophyton- und anderen Fadenpilzen mittels Neutralrot. (*Ztschr. f. Hygiene etc.* Bd. XXXVIII. 1901. Heft 2. p. 319—331.)
- Vanderyst, H.**, Les urédinées observées en Belgique. (*Rev. génér. agronom.* 1900. p. 359—368.)
- Wolff, A.**, Ueber die Reduktionsfähigkeit der Bakterien einschließlich der Anaerobien. [*Inaug.-Diss. Tübingen.*] gr. 8°. 35 p. Braunschweig 1901.
- Zang, E.**, Beiträge zur Biologie von *Carabus nemoralis* Müll. (*Allg. Ztschr. f. Entomol.* 1901. No. 18. p. 273—276.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Boden.

- Giustiniani, E.**, L'humidité des terres et la dénitrification. (*Annal. agronom.* 1901. No. 6. p. 262—285.)

Luft und Wasser.

- Ballner, F.**, Zur Gewinnung von keimfreiem Trinkwasser durch Zusatz von Chlorkalk und Brom. (*Wien. med. Wechschr.* 1901. No. 31, 32. p. 1457—1460, 1511—1515.)

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

- Giard, A.**, Notes bibliographiques sur les insectes nuisibles aux livres et aux reliures. (*Bullet. de la soc. entomol. de France.* 1901. No. 12. p. 214—216.)

Fleisch.

- Böhm, J.**, Die Hygiene im Trichinenschauamte. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. 1901. Heft 11. p. 321—324.)
- Mayer, E.**, Ueber den Keimgehalt des käuflichen Hackfleisches und den Einfluß der gewöhnlichen Getränke auf den Genuß desselben. (Hygien. Rundschau. 1901. No. 18. p. 877—891.)

Milch, Molkerei.

- Consolino, O.**, Ueber Säuerung von Kuh-, Schaf-, Eselin- und Frauenmilch durch *Bacterium coli commune*. (Arch. f. Kinderheilk. Bd. XXXII. 1901. Heft 3/4. p. 211—231.)
- Morton, E. G.**, Formaldehyde in milk. (Ohio sanit. bullet. 1901. No. 7/8. p. 121—124.)

Bier, Brauerei.

- Chrasson, T.**, Untersuchungen über die Infektion der Würze auf dem Kühlschiffe. Mitgeteilt von Luff. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. 1901. No. 38. p. 585—594.)
- Lindner, C. J.**, Ueber die Unterscheidung von Getreide- und untergäriger Bierpreßhefe durch Bestimmung der Gärkraft bei verschiedenen Temperaturen. (Wchschr. f. Brauerei. 1901. No. 36. p. 446—447.)
- Will, H.**, Die Farbe des Bieres und die Hefe. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. 1901. No. 33—37. p. 501—505, 522—524, 537—542, 553—556, 569—573.)

Wein, Weinbereitung.

- v. Katter, H.**, Die Reinhefe und das neue Weingesetz. (Weinbau u. Weinhandel. 1901. No. 38. p. 418—419.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

- Behrens, J.**, Fadenziehendes Brot. (Wchbl. d. landwirtschaftl. Vereins im Großherzogtum Baden. 1901. No. 38. p. 569—570.)
- Svoboda, H.**, Fadenziehendes Brot. (Oesterr. Chemiker-Ztg. 1901. No. 18. p. 417—418.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

- Letts and Blake, E. F.**, On the chemical and biological changes occurring during the treatment of sewage by the so-called bacteria beds. (Chemical news. 1901. No. 2184. p. 161.)
- Lübbert, A.**, Ueber die Wohnungsdesinfektion mit Formaldehyd. (Dtische militärärztl. Ztschr. 1901. Heft 8/9. p. 509—512.)
- Steuernagel, C.**, Die biologische Reinigung der Kanalwässer. (Centralbl. f. allg. Gesundheitspf. 1901. Heft 7/8. p. 270—274.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

- Britton, W. E.**, On the banding of trees to prevent injury by the fall canker-worm. (Rep. of the Connecticut agricult. experim. stat. 1900. Part 3. p. 312—314.)
- „Canker“ fungus (*Nectria ditissima*). (Journ. of the Board of Agricult., London 1901. Vol. VIII. No. 1. p. 12—14.)
- Giard, A.**, La périodicité des invasions d'Acridiens (*Caloptenus italicus* L.) et la lutte préventive contre ces Orthoptères. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1901. No. 23. p. 671—672.)
- Gooseberry mildew (*Microsphaeria grossulariae*). (Journ. of the Board of Agricult., London 1901. Vol. VIII. No. 1. p. 1—4.)
- Gutzait, E.**, Welche Momente befördern die Schädlichkeit des Erbsenwicklers? [Vorl. Mitteil.] (Dtische landwirtschaftl. Presse. 1901. No. 81, 82. p. 681—682, 687—688.)
- Hillmann, F.**, Die Bekämpfung des Unkrautes. (Landbote. 1901. No. 49. p. 467—469.)
- Maier**, Zur Frage der Vertilgung des Hederichs (Dills) durch Chilisalpeterlösung. (Wchbl. d. landwirtschaftl. Vereins in Bayern. 1901. No. 25. p. 509—510.)

- Mathew, G. F.**, Moths carried off sugar by Sandhoppers (*Talitrus locusta*). (Entomologist. 1901. April. p. 127.)
- Müller, C. A.**, Der gefürchtete Dickmaulrüssler, *Otiorhynchus sulcatus*. (Weinbau u. Weinhandel. 1901. No. 25. p. 290.)
- Oehmichen**, Unkrautvertilgungsversuche mittels verschiedener Metallsalzlösungen. (Ztschr. d. Landwirtschaftskammer f. d. Prov. Schlesien. 1901. Heft 25. p. 922—926.)
- v. Schilling**, Ein verhaßter Rosenwickler. (Prakt. Ratgeber im Obst- u. Gartenbau. 1901. No. 26. p. 257—258.)
- Schults, G.**, Zur Hederichvernichtung. (Landbote. 1901. No. 50. p. 480.)
- Steglich**, Ueber Unkrautvertilgung durch Salzlösungen. (Sächs. landwirtschaftl. Ztschr. 1901. No. 20. p. 401—404.)
- Stift A.**, Bemerkungen über das Auftreten des Haaraul-Bogenfurchenrüsslers (*Tanymecus palliatus*) auf Zuckerrüben. (Wien. landwirtschaftl. Ztg. 1901. No. 39. p. 344.)
- Sturgis, W. C.**, Peach-foliage and fungicides. (Rep. of the Connecticut agricult. experim. stat. 1900. Part 3. p. 219—254.)
- —, Literature of plant-diseases. (Ibid. p. 255—297.)
- Truchot, Ch.**, Traitements contre le mildiou. (Rev. du Syndicat agric. et vitic. de Chalon-sur-Saône. 1901. Juin. — Vigne améric. 1901. No. 6. p. 178—184.)
- v. Tubeuf, C.**, Die Schüttekrankheit der Kiefer und ihre Bekämpfung. (Vierteljahrsschr. d. Bayer. Landwirtschaftsrates. 1901. Ergänzungsheft zu Heft 2. p. 486—491.)
- Thomas, F.**, Kleiner Beitrag zur Kenntnis der Stengelgalle von *Aulax Scabiosae* (Gir.) an *Centaurea scabiosa*. (Mitteil. d. Thür. botan. Vereins N. F. 1900. Heft 15. p. 45—48.)

Inhalt.

Originalmittheilungen.

- Chrassacs, T.**, Bemerkung zum Fehlschlagen der Sporangien bei *Mucor Rouxii*. (Orig.), p. 913.
- Emmerich, E. u. Loew, O.**, Nachschrift. (Orig.), p. 914.
- Stutzer, A.**, Die Bildung von Bakteroiden in künstlichen Nährböden. (Orig.), p. 897.

Zusammenfassende Uebersichten.

- Zimmermann, A.**, Sammelreferate über die tierischen und pflanzlichen Parasiten der tropischen Kulturpflanzen. (Orig.), p. 914.

Referate.

- Duggar, B. M.**, Physiological studies with reference to the germination of certain fungous spores, p. 937.
- Heinze, Berthold**, Einiges über die Krankheiten und Fehler beim Weine unter besonderer Berücksichtigung der Infektionskrankheiten desselben, p. 926.
- Krüger, W. u. Schneidewind, W.**, Zersetzungen und Umsetzungen von Stickstoffverbindungen im Boden durch niedere Organismen und ihr Einfluß auf das Wachstum der Pflanzen, p. 930.
- Life, A. C.**, The tuber-like rootlets of *Cycas revoluta*, p. 939.

Meyer, Arthur, Ueber Chlamydosporen und über sich mit Jod blau färbende Zellmembranen bei den Bakterien, p. 925.

Ott de Vries, J. J. u. Boekhout, F. W. J., Beitrag zur Kenntnis der Labgerinnung, p. 927.

Peglion, V., Ueber den Parasitismus der *Botryosporium*-Arten, p. 938.

Peter, A., Untersuchungen über geblähte Käse, p. 928.

Pierce, N. B., Walnut bacteriosis, p. 938.

Schulze, Beiträge zur Alinitfrage, p. 929.

Stoklassa, Ueber die Nitratgärung und ihre Bedeutung in den biologischen Prozessen des Bodens, p. 936.

Zielinski, Z. u. Ostaszewski, Eden, Ueber das Auftreten des *Eurycreon sticticalis* L. in Rußland, p. 939.

Wahl, Robert and Henius, Max, American handy-book of the brewing, malting and auxiliary trades, p. 926.

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Beauverie, J., Essai d'immunisation des végétaux contre les maladies cryptogamiques, p. 941.

Sanderson, D. and Fensley, C., Hydrocyanic-acid gas as an insecticide on low-growing plants, p. 941.

Neue Litteratur, p. 702.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Prof. Dr. J. Behrens in Weinsberg i. W.,
Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Dr. v. Freudenreich in Bern, Privatdocent
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Dr. G. Harris Morris
in London, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädensweil, Dr. Erwin F. Smith in
Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr.,
Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Wegmann in Kiel
und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

VII. Band.

Jena, den 30. Dezember 1901.

No. 26.

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 90 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 75 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 50 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 50 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band VII enthaltenen Arbeiten.

- | | | | |
|--|-----|---|-----|
| Aderhold, R., Arbeiten der botanischen
Abteilung der Versuchsstation des
königl. Pomologischen Institutes zu
Proskau. III. (<i>Orig.</i>) | 654 | Barendrecht, H. P., Die Agglutination
von Hefe. (<i>Orig.</i>) | 623 |
| Algner-Abasi, L., Acherantia atropos
L. IV. Schädlichkeit. | 252 | Beauverle, J., Essai d'immunisation des
végétaux contre les maladies crypto-
gamiques. | 940 |
| Albert, R., Einfacher Versuch zur
Veranschaulichung der Zymasewir-
kung. | 473 | Beck von Managetta, G. R., Ueber
eine neue Krankheit unserer Radies-
chen. | 731 |
| Albert R. u. Albert W., Chemische
Vorgänge in der abgetöteten Hefe-
zelle. (<i>Orig.</i>) | 737 | Behrens, J., Ueber die oxydierenden
Bestandteile u. die Fermentation des
deutschen Tabaka. (<i>Orig.</i>) | 1 |
| Albert W. siehe Albert R. | | Beijerinck, M. W., Anhäufungsver-
suche mit Ureumbakterien. Ureum- | |

Zweite Abt. VII. Bd.

61

- spaltung durch Urease und durch Katabolismus. (*Orig.*) 33
- Bejerinck, M. W.**, Further researches on the formation of indigo from the woad (*Isatis tinctoria*). 155
- , On different forms of hereditary variation of microbes. 363.
- , On indigo-fermentation. 155
- , On the formation of indigo from the woad (*Isatis tinctoria*). 154
- , Ueber oligonitrophile Mikroben. (*Orig.*) 561
- Blodgett, F. H.** siehe **Stewart, F. C.**
- Boekhout, F. W. J. u. de Vries, J. J. O.**, Ueber die Reifung der Edamer Käse. (*Orig.*) 817
- Boekhout, F. W. J.** siehe **de Vries, J. J. Ott.**
- Bokorny, Th.**, Einige Beobachtungen über das Gärungsferment der Hefe. 550
- , Vergleichende Bemerkungen über die spontane und die durch Lab bewirkte Milchgerinnung. 437
- , Wirkung des Alkohols auf die fermentierende Thätigkeit der Hefe. 851
- Brefeld, O.**, Ueber die geschlechtlichen und ungeschlechtlichen Fruchtformen bei den kopulierenden Pilzen. 811
- Buchner, E.**, Bemerkungen zur Arbeit von Macfadyen, Morris und Rowland „Ueber ausgepreßtes Hefezellplasma.“ 73
- , Ueber die Zymase. 845
- , Zymase aus getöteter Hefe. 247
- , u. **Rapp, R.**, Alkoholische Gärung ohne Hefezellen. X. 809
- Chick, H.**, Sterilisierung von Milch durch Wasserstoffsperoxyd. (*Orig.*) 705
- Chrzaszcz, T.**, Bemerkung zum Fehlschlagen der Sporangien bei *Mucor Rouxii*. (*Orig.*) 913
- , Die chinesische Hefe. *Mucor Cambodja*, eine neue technische Pilzart, nebst einigen Beobachtungen über *Mucor Rouxii*. (*Orig.*) 326
- Conn, H. W. u. Esten, W. M.**, The ripening of cream. (*Orig.*) 743, 769
- Déhérain et Demoussy**, Sur la culture des lupins bleus (*Lupinus angustifolius*). 551
- Demoussy** siehe **Déhérain**.
- Denkschrift XXI.** betreffend die Bekämpfung der Reblauskrankheit 1898 664
- Doerstling, P.**, Auftreten von *Aphis* an Wurzeln von Zuckerrüben. 733
- Dorsett, P. H.**, Spot disease of the violet. 669
- Dreyer** siehe **Dunbar**.
- Duggar, A. M.**, Physiological studies with reference to the germination of certain fungous spores. 937
- Du Rol**, Erfahrungen über die Anwendung des Pasteurisierverfahrens zur Bekämpfung von Butterfehlern. 852
- , Ueber die Erhitzung der Vollmilch oder deren Nebenprodukte in den Sammelmolkereien. 407
- Dunbar u. Dreyer**, Untersuchungen über das Verhalten der Milchbakterien im Milchthermophor. 240
- Eckstein, K.**, Infektionsversuche und sonstige biologische Beobachtungen an Nonnenraupen. 733
- Elliesen, M.**, Einfluß des Vegetationszustandes verschiedener Hefen auf ihr Vermehrungs- und Gärvermögen. (*Orig.*) 497
- Emmerich, R. u. Loew, O.**, Nachschrift zum Artikel: „Ueber biochemischen Antagonismus“. (*Orig.*) 914
- Eriksson, J.**, Giftiges Süßgras, *Glyceria spectabilis*, von *Ustilago longissima* befallen. 731
- , Tabellarische Uebersicht der in Schweden auftretenden Getreiderostpilzformen. 730
- Escherich, K.**, Ueber das regelmäßige Vorkommen von Sproßpilzen in dem Darmepithel eines Käfers. 700
- Esten, W. M.** siehe **Conn, H. W.**
- Ewart**, Einige der Blutlaus ähnliche Pflanzenläuse. 404
- Fischer, E.**, Fortsetzung der entwicklungsgeschichtlichen Untersuchungen über Rostpilze. 693
- Fleischer, E.**, Ueber Wasch- und Spritzmittel zur Bekämpfung der Blattläuse, Blutläuse und ähnlicher Pflanzenschädlinge. 734
- Freudenreich, E. v.**, Ueber einige Versuche mit Tyrogen (*Bacillus nobilis* Adam.) (*Orig.*) 857
- Geret, L.** siehe **Hahn, M.**
- Gerlach, u. Vogel**, Ueber eieißbildende Bakterien. (*Orig.*) 609
- Gontière, J. F.**, Sur quelques maladies du tabac. 733
- Gotthell, O.**, Botanische Beschreibung einiger Bodenbakterien. (*Orig.*) 430, 449, 481, 529, 582, 627, 680, 717
- Gruner, M.**, Biologische Untersuchungen an Schaumcickaden. 812
- Hagemann, C.**, Ueber die Wirkung des Milchthermophors. (*Orig.*) 640
- Hahn, M. u. Geret, L.**, Ueber das Hefe-Endotrypsin. 394
- Hansen, E. Chr.**, Recherches sur la physiologie et la morphologie des

- ferments alcooliques. X. La variation des Saccharomyces. 199
- Hansen, E. Chr.**, Recherches sur les bactéries acétifiantes. 439
- Hanus u. Stocký**, Ueber die chemische Einwirkung der Schimmelpilze auf die Butter. 29
- Harz, C. O.**, Ueber einige Schimmelpilze auf Nahrungs- und Genußmitteln. 552
- Heckel, E.**, Sur le parasitisme du *Ximenia americana*. 892
- Heim, L.**, Ueber die Bedeutung der Bakteriologie bei der Lebensmittelkontrolle. 364
- Heinze, B.**, Einiges über die Krankheiten und Fehler beim Weine unter besonderer Berücksichtigung der Infektionskrankheiten desselben. 927
- Heinzelmann, G.**, Schimmeliges Mehl. 438
- Hentus, M.** siehe **Wahl, R.**
- Henneberg, W.**, Hefe fressende Amöben eines Schleimpilzes (*Physarum leucophaeum* Fr.) und Hefe fressende Tieramöben. 890
- , Variation einer untergärigen Hefe während der Kultur. 891
- Henriquet, P.**, Quelques parasites du Chêne-Liège. 732
- Hertzog, A.**, Die Bekämpfung des Aeschers und der Blattfalkkrankheit. 523
- Hiltner, L.**, Ueber die Ursachen, welche die Größe, Zahl, Stellung und Wirkung der Wurzelknöllchen der Leguminosen bedingen. 202
- siehe **Noble, F.**
- Hiratsuka, N.**, Notes on some Melamporeae of Japan. III. Japanese species of *Phakopsora*. 157
- Hollrung, M.**, Jahresbericht über die Neuerungen und Leistungen auf dem Gebiete des Pflanzenschutzes. 523
- Holtz, W.**, Beitrag zur Kenntnis der Baumflüsse und einiger ihrer Bewohner. (*Orig.*) 113, 179, 229, 274, 338
- Jacky, E.**, Der Chrysanthemum-Rost. 698
- Jacobitz, E.**, Die Assimilation des freien elementaren Stickstoffes. (*Orig.*) 783, 833, 876
- Jahn, E.**, Myxomycetenstudien. 600
- Jensen, H.**, Bemerkungen zu Stutzer: Neue Untersuchungen über salpeterzerstörende Bakterien. (*Orig.*) 637
- Jones, L. R.**, *Bacillus carotovorus* n. sp., die Ursache einer weichen Fäulnis der Möhre. (*Orig.*) 12. 61
- Juckenack, A.**, Beitrag zur Kenntnis des fadenziehenden Brotes. 109
- Jundell, J.**, Ny apparat för bakteriernas oskadliggörande i mjölk och dess hygieniska betydelse enligt undersökning vid applikation till G. Salenii radiator. 406
- Iwanoff, K. S.**, Die im Sommer 1898' bei Petersburg beobachteten Krankheiten. 692
- Iwanowski**, Ueber die Mosaikkrankheit der Tabakspflanze. (*Orig.*) 148
- u. **Obrastzow, S.**, Ueber die Wirkung des Sauerstoffes auf die Gärung verschiedener Hefearten. (*Orig.*) 305
- Kaerger**, Landwirtschaft und Kolonisation im spanischen Amerika. 663
- Klissa, N. W.**, Kropfmaserbildung bei *Pirus malus chinensis*. 850
- Klebahn, H.**, Beiträge zur Kenntnis der Getreideroste II. 696
- , Kulturversuche mit Rostpilzen. IX. 693
- Klimmer**, Ziele und Wege der Milchhygiene. 475
- Klücker, A.**, La formation d'enzymes dans les ferments alcooliques peut-elle à caractériser l'espèce? 152
- u. **Schlönnig, H.**, Phénomènes d'accroissement perforant et de formation anormale des conidies chez le *Dematium pullulans* de Bary, et autres champignons. 152
- Knecht, W.**, Auswahl von Kohlehydraten durch verschiedene Hefen bei der alkoholischen Gärung. (*Orig.*) 161, 215
- König, J.**, Beiträge zur Selbstreinigung der Flüsse. 408
- Krüger, W.**, Die neuesten Forschungen der landwirtschaftlichen Bakteriologie. 68
- u. **Schneidewind, W.**, Sind niedere chlorophyllgrüne Algen imstande, den freien Stickstoff der Atmosphäre zu assimilieren und den Boden an Stickstoff zu bereichern? 149
- —, Ursache und Bedeutung der Salpeterzersetzung im Boden. 71
- —, Zersetzungen und Umsetzungen von Stickstoffverbindungen im Boden durch niedere Organismen und ihr Einfluß auf das Wachstum der Pflanzen. 930
- Kudelka, F.**, Ueber die zweckmäßigste Art der Anwendung künstlicher Düngemittel zu Zuckerrüben und ihre Beziehung zum Wurzelbrand. 732
- Kühn**, Die Assimilation des freien Stickstoffes durch Bodenbakterien ohne Symbiose mit Leguminosen. 601
- Kullsch**, Zur Bekämpfung des *Oidium*s 61*

- am Rebstock vor dem Austreiben desselben. 412
- Lafar, F.**, *Bacillus acidificans longissimus* und *Bacillus Delbrückii*. (*Orig.*) 871
- Lagerhelm, G. v.**, *Mykologische Studien*. III. Beiträge zur Kenntnis der parasitischen Bakterien und der bakterioiden Pilze. 248
- Lemmermann** siehe **Pfeiffer**.
- Life, A. C.**, The tuber-like rootlets of *Cycas revoluta*. 939
- Lindner, P.**, Eine einfache Methode zur Bestimmung der Vergärbarkeit der verschiedenen Zuckerarten durch Gärungsorganismen. 241
- , Gärversuche mit verschiedenen Zucker- und Hefearten. 466
- Loew, O.**, Nochmals über die Tabakfermentation. II. 673
- , Physiological studies of Connecticut leaf tobacco. 250
- Ludwig, F.**, Bemerkung zu Dr. W. Holtz' Arbeit über Baumflüsse. (*Orig.*) 599
- , Die Eichenhefe und die Hefenfrage. 846
- , Phosphoreszierende Tausendfüßler und die Lichtfäule des Holzes. (*Orig.*) 270
- , Pilzflüsse der Bäume. Beobachtungen aus den Jahren 1899 und 1900. (*Orig.*) 350
- Lütke**, Zur *Lydakalamität*. 556
- Lüstner, G.**, Ueber eine neue Gallmücke des Weinstockes, *Clinodiplosis vitis* n. sp. 552
- Loew, O.**, Eine Bemerkung zu den Ansichten über die Natur der *Zymase*. (*Orig.*) 436
- Macfadyen, A.**, **Morris, G. H.**, u. **Rowland, S.**, Ueber ausgepreßtes Hefezellplasma. I 25
- Magnus, P.**, Einige Bemerkungen zu Ernst Jacky's Arbeit über die Kompositen bewohnenden Puccinien vom Typus der *Puccinia hieracii*. 849
- , **J. Bornmüller**, *Iter syriacum* 1897. Fungi. 764
- Magnus, W.**, Studien an der endotrophen Mykorrhiza von *Neottia Nidus avis* L. 291
- Marpmann, F.**, Ueber Leben, Natur und Nachweis des Hausschwammes und ähnlicher Pilze auf biologischem und mikroskopisch-mikrochemischem Wege. (*Orig.*) 775
- Matzdorff**, Kerfschädigungen in Kanada während 1898. 699
- , Pflanzenkrankheiten der Staaten Georgia und Florida. 554
- Matzuschita, T.**, Der Einfluß der Temperatur und Ernährung auf die Eigenbewegung der Bakterien. (*Orig.*) 209
- Meyer, A.**, Ueber Chlamydosporen und über sich mit Jod blau färbende Zellmembranen bei den Bakterien. 925
- Mohr, K.**, Versuche über die Bekämpfung der Blutlaus mittelst Petrolwassers. 30
- Mollard, M.**, Sur quelques caractères histologiques des cécidies produites par l'*Heterodera radicolica*. 521
- Morris, G. H.** siehe **Macfadyen A.**
- Näf, A.**, Die Feldmäuse und deren Bekämpfung mit Anwendung des Loeffler'schen Mäusebacillus. 524
- Nicolai, K. H.**, Bakteriologische Untersuchungen über Wurzeln u. Samen von *Hedysarum coronarium*. 301
- Noack, F.**, Pilzkrankheiten der Orangenbäume in Brasilien. 470
- Nobbe, F. u. Hiltner, L.**, Ueber die Wirkung der Leguminosenknöllchen in der Wasserkultur. 70
- , Wie läßt sich die Wirkung des Nitragins erhöhen. 238
- Nüsslin**, Die Tannenwurzellaus, *Pemphigus Poschingeri*. 552
- Obrastzow S.** siehe **Iwanowski, D.**
- Ostaszewski, E.** siehe **Ziellinski, Z.**
- Pakes, W. C. C.**, On the value of plating as a means of determining the number of Bacteria in drinking water. (*Orig.*) 386
- Palla, E.**, Zur Kenntnis der *Pilobolus*-Arten. 847
- Peglion, V.**, Ueber den Parasitismus der *Botryosporium*-Arten. 938
- , Ueber die *Nematospora Coryli* Pegl. (*Orig.*) 754
- Pensey, C.**, siehe **Sanderson, D.**
- Peter, A.**, Untersuchungen über geblähte Käse. 928
- Petruschky**, Gutachten über die Zweckmäßigkeit der rein mechanischen Klärung der Thorner Wässer vor Einleitung in die Weichsel. 149
- Pfeiffer u. Lemmermann**, Denitrifikation und Stallmistwirkung. 23
- Pfuhl A.**, Ueber das Schumburg'sche Verfahren zur Wasserreinigung. 701
- Pierce, N. B.**, Peach leaf curl. 669
- , Walnut bacteriosis. 938
- Pospjelow, W.**, Die Parasiten der Hessenfliege in Rußland. 602
- Potel, H.**, *Molestias cryptogamicas da batata inglesa e sui tractamento*. 522
- Potter, M. C.**, Ueber eine Bakterienkrankheit der Rüben. (*Orig.*) 282.
- Rapp, R.** siehe **Buchner, E.**

- Reh, Forstschädliche Insekten im Nordwesten der Vereinigten Staaten von Nordamerika. 473
- , Ueber *Aspidiotus ostreaeformis* u. *A. pyri*. 604
- , Ueber Schildbildung und Häutung bei *Aspidiotus perniciosus* Comst. 604
- , Untersuchungen an amerikanischen Obstschildläusen. 604
- , Versuche über die Widerstandsfähigkeit von Diaspinen gegen äußere Einflüsse. 605
- , Zuchtergebnisse mit *Aspidiotus perniciosus* Comst. 603
- Reuss, H., Zur Illustration der Folgenachteile der Schälbeschädigung durch Hochwild im Fichtenbestande. 554
- Reuter, E., In Dänemark im Jahre 1898 beobachtete Krankheitserscheinungen. 469
- , In Norwegen im Jahre 1898 aufgetretene Pflanzenkrankheiten. 470
- Richter, A., Zur Frage der chemischen Reizmittel. (*Orig.*) 417
- Riek, J., Eine neue *Sclerotinia*-Art. 699
- Rommel siehe Sitnikoff.
- Rowland, S. siehe Macfadyen, A.
- Salfeld, Vernichtet Aetzkalk die Leguminosenpilze auf hohem, leichtem Sandboden. 446
- Sanderson, D., and Pensey, C., Hydrocyanic-acid gas as an insecticide on low-growing plants. 941
- Sauvageau, C., Influence d'un parasite sur la plante hospitalière. 522
- Schellenberg, H., Antioïd als Bekämpfungsmittel der *Peronospora*. 523
- Schlerbeck, N. P., Ueber die Variabilität der Milchsäurebakterien mit Bezug auf die Gärungsfähigkeit. 107. 239
- Schimper, A. W., Anleitung zur mikroskopischen Untersuchung der vegetabilischen Nahrungs- u. Genußmittel. 474
- Schlönning, H. siehe Klöcker, A.
- Schlichting, Zur Bekämpfung des Apfelmehltaues. 556
- Schneidewind, W. siehe Krüger, W.
- Schorler, B., Beiträge zur Biologie der verunreinigten Wasserläufe. Die Mikroflora und -fauna der Elster und Luppe. 396
- Schulze, Beiträge zur Alinitfrage. 929
- Seelitz, W., Erfolgreiche Bekämpfung des Traubenpilzes. 478
- Serkowski, St., Ueber den Bau der Bakterienkolonien. 391
- Severin, S., Die im Mist vorkommenden Bakterien und deren Rolle bei der Zersetzung desselben. (*Orig.*) 369
- Sitnikoff u. Rommel, Vergleichende Untersuchungen über einige sogenannte *Amylomyces*-Arten. 245
- Smith, E. F., Entgegnung auf Alfred Fischer's „Antwort“ in betreff der Existenz von durch Bakterien verursachten Pflanzenkrankheiten. (*Orig.*) 88. 128. 190
- Smith, G., The haustoria of the *Erysipheae*. 468
- Smith, R. E., *Botrytis* and *Sclerotinia*: their relation to certain plant diseases and to each other. 469
- Solla, In Italien beobachtete Krankheiten. 850
- Sorauer, P., Der Vermehrungspilz. 553
- , Schutz der Obstbäume gegen Krankheiten. 411
- Sorko, L., Neuerungen auf dem Gebiete der *Peronospora*- und *Oidium*-bekämpfung. 412
- Spelser, P., Zur Kenntnis der geographischen Verbreitung der *Ascomycetengattung Helminthophana*. 846
- Spitta, O., Untersuchungen über die Verunreinigung und Selbstreinigung der Flüsse. 75
- Steuder A., Vertilgung gewisser Ackerunkräuter durch Metallsalze. 852
- Stewart, F. C., and Blodgett, F. H., A fruit-disease survey of the Hudson Valley in 1899. 891
- Stocký siehe Hanuš.
- Stoklasa, J., Replik auf J. Behrens' Bemerkungen im Referate „Ueber neue Probleme der Bodenimpfung“. (*Orig.*) 22
- , Ueber die Nitratsgärung und ihre Bedeutung in den biologischen Prozessen des Bodens. 936
- u. Vitek, E., Die Stickstoffassimilation durch die lebende Bakterienzelle. (*Orig.*) 257
- Stutzer, A., Die Bildung von Bakteroiden in künstlichen Nährboden. (*Orig.*) 897
- , Die Organismen der Nitrifikation. (*Orig.*) 168
- , Entgegnung auf vorstehende Angaben. (*Orig.*) 639
- , Neue Untersuchungen über die Wirkung von salpeterzerstörenden Bakterien in Nährlösungen. (*Orig.*) 81
- , Ueber den Einfluß der Bakterien auf die Knochenzersetzung. (*Orig.*) 752
- Sydow, H. u. Sydow, P., Zur Pilzflora Tyrols. 467
- Sydow, P. siehe Sydow, H.

- Taschenberg, E. L., Schutz der Obstbäume gegen feindliche Tiere. 476
- Thaxter, E., Preliminary diagnoses of new species of Laboulbeniaceae. 513
- Thiele, R., Zur Verbreitung der Leguminosenbakterien. 238
- Trübswetter, Zur Frage der Kiefern-schütte. 205
- Tubenf, K. v., Studien über die Schütte-krankheit der Kiefer. 440
- d'Utra, C., Molestias vermiculares do cafeiro. 522
- Verney, L., Ueber den Milchthermophor (Orig.) 646
- Verson, F., Un' affezione parassitaria del filugello non descritta ancora. 405
- Vitek, E. siehe Stoklasa, J.
- Vogel siehe Gerlach.
- de Vries, J. J. Ott u. Boekhout, F. W. J., Beitrag zur Kenntnis der Labgerinnung. (Orig.) 926
- de Vries, J. J. O. siehe Boekhout, F. W. J.
- Wahl, R. u. Henius, M., American handy-book of the brewing, malting and auxiliary trades. 926
- Weber, A., Die Bakterien der sogenannten sterilisierten Milch des Handels, ihre biologischen Eigenschaften und ihre Beziehungen zu den Magen - Darmkrankheiten der Säuglinge mit besonderer Berücksichtigung des giftigen peptonisierenden Bakterien Flüge's. 762
- Wehmer, C., Der javanische Ragi und seine Pilze. II. (Orig.) 313
- , Zum Fehlschlagen der Sporangien bei Mucor Rouxii. (Orig.) 599
- Weigmann, Ueber die bakteriologische Zusammensetzung und über die Wirkung zweier „direkter Rahmsäureentwickler“. 153
- Well, Die Entstehung des Solanins in den Kartoffeln als Produkt bakterieller Einwirkung. 204
- Went, F. A. F. C., Monilia sitophila, ein technischer Pilz Javas. (Orig.) 544. 591
- Wilfarth, H., Ein neuer Gesichtspunkt zur Bekämpfung der Nematoden. 445
- Will, H., Einige Beobachtungen über die Lebensdauer getrockneter Hefen. V. Nachtrag. 438
- , Hefewasser zur biologischen Analyse. 892
- , Studien über Proteolyse durch Hefen. II. (Orig.) 794
- Windisch, R., Ueber die Einwirkung des Kalkhydrates auf die Keimung. 477
- Woods, A. F., Stigmonose. 300
- Woronin, M., Ueber Sclerotinia cinerea u. Scl. fructigena. 390
- Wortmann, J., Untersuchungen über das Bitterwerden der Rotweine. 289
- Zielinski, Z., u. Ostaszewski, E., Ueber das Auftreten des Eurycreon sticticalis L. in Rußland. 939
- Zimmermann, A., Eenige proeven en waarnemingen over aaltjes. 557
- , Einige javanische, auf Cocciden parasitierenden Ascomyceten. (Orig.) 872
- , Korte opmerkingen over eenige ziekten en plagen van koffie en bijcultures. waargenomen op eenige koffiellanden in Oostjava. 471
- , Over de Enchytraeiden en haar voorkomen in de koffiewortels. 602
- , Over een nieuwen koffieboorder. 603
- , Over eene schimmel-epidemie der groene luis. 608
- , Sammelreferate über die tierischen und pflanzlichen Parasiten der tropischen Kulturpflanzen II. Die Parasiten des Kakaos. (Orig.) 914
- , Ueber einige an tropischen Kulturpflanzen beobachtete Pilze. (Orig.) 101. 139

II. Namen- und Sachregister.

- Abwässer von Thorn, mechanische Klärung. 149
- Acanthoderes rusticus als Kakao-schädling. 917
- Acherontia atropos, Schädlichkeit. 252
- Ackerunkräuter, Vertilgung mit Metallsalzen. 852
- Actinomyces, systematische Stellung 552
- Accidium adenostylis Syd. auf Adenostyles albifrons. 467
- Accidium auf Angelica silvestris, Infektionsversuche. 695
- cardui Syd. auf Carduus defloratus. 467
- cinnamomi auf Zimmt. 472
- crepidicolum. 468
- crepidis montanae Syd. auf Crepis montana. 468
- — incarnatae Syd. auf Crepis incarnata. 468
- grossulariae bei Petersburg. 692

- Aecidium ligustri* zu *Puccinia obtusata* gehörig. 693
 — *petasitidis* Syd. auf *Phytewma orbiculare*. 467
 — *strobilinum*, Zusammenhang mit *Pucciniastrum padi*. 444
Aetzalkali, Wirkung auf die Pilze der Leguminosenknöllchen. 446
Aleuria accedens Rehm an Bäumen mit Schleimfluß. 352
 Algen niedere, Unfähigkeit atmosphärischen Stickstoff zu assimilieren. 149
 Alinitbakterien, Kultur- und Bodenversuche. 929
 Alkohol, Wirkung auf die Enzyme der Hefe. 851
Alternaria solani auf Kartoffeln. 522
 — *violae*, Bekämpfung. 669
Amoeba verrucosa in der Luppe. 399
Amorphomyces obliqueseptata Thaxt. auf einer Staphylinide. 519
Amylomyces-Arten, Kulturen u. Unterschiede. 245
 Anhäufungserscheinungen durch Ureum. 37
Anobium paviceum, Sproßpilze im Darmepithel. 700
 Antagonismus biochemischer. 914
 Antioïd gegen die *Peronospora*. 523
Anuraea aculearis in der Elster. 398
 — *cochlearis* in der Elster und Luppe. 398
Apfelmehltau, Bekämpfung. 556
Aphis an Zuckerrübenwurzeln. 733
 — *brassicae* in Kanada. 699
Aphrophora, Biologie. 812
Arachnopus an Kaffee. 472
Argyresthia conjugella in Kanada. 700
Ascochyta chlorospora bei Dürrfleckenkrankheit des Steinobstes. 655
 — *doronici* Jwan. auf *Dorosicum*. 692
Ascococcus Billrothi, Bau der Kolonien. 394
Aspergillus Delacroixii als Kakaoschädling. 923
 — *flavus*, Sporeneimung. 937
 — *niger*, Rolle des Zink und Kupfer bei der Ernährung. 417
Aspidiotus cameliae, Vorkommen an Früchten. 605
 — *ancylus*, Vorkommen an Früchten. 605
 — *Forbesi*, Vorkommen an Früchten. 605
 — *ostreiformis*, Unterscheidung von *A. pyri*. 604
 — *perniciosus*, Entwicklung. 603
 — *perniciosus*, Schildbildung und Häutung. 604
 — —, Vorkommen an Früchten. 605
Asplachna priodonta in der Elster. 398
Asterionella formosa in der Elster und Luppe. 398
Atmodes marmorea als Kakaoschädling. 917
Atta cephalotes als Kakaoschädling. 917
 — *octospinosa* als Kakaoschädling. 917
 — *sexidens* als Kakaoschädling. 917
Azotobacter agilis, Kultur. 577
 — *chroococcum*, Anhäufung aus Gartenerde. 568
 — —, Reinkultur. 574
 — —, Diagnose der Gattung und der Arten. 581
Bacillus acidi lactici, Bau der Kolonien. 394
 — — —, Beeinflussung der Eigenbewegung. 211
 — — — in Käse. 749
 — *acidificans longissimus*, Vergleich mit *B. Delbrückii*. 871
 — *agilis*, Kulturen. 82
 — *aquatilis*, Bau der Kolonien. 394
 — — *sulcatus*, Bau der Kolonien. 394
 — *arborescens*, Bau der Kolonien. 394
 — *asterosporus*, Beschreibung. 727
 — *carotarum*, Beschreibung. 721
 — —, Bildung plasmaarmer Stäbchen. 925
 — *carotovorus* Jones, Gasproduktion. 66
 — — —, Indolbildung. 65
 — — —, Morphologie und Biologie. 16
 — — —, Reaktion der Kulturen. 63
 — — —, Reduktionsprozesse. 64
 — — —, Schwefelwasserstoffbildung. 65
 — — —, Verhalten auf verschiedenen Kulturböden. 18. 61
 — — —, — gegen Austrocknen. 66
 — — —, — gegen Gase. 62
 — — —, — gegen Licht. 65
 — — —, — gegen Wärme und Kälte. 62
 — — —, — gegen Säuren und Alkalien. 63
 — *caulivorus* auf Kartoffeln. 522
 — *Chauvoei*, Bau der Kolonien. 394
 — *cohaerens* A. M. et Gotth., Beschreibung. 689. 717
 — —, Chlamydosporenbildung. 925
 — *cuniculicida*, Bau der Kolonien. 394
 — *cyanogenes*, Beeinflussung der Eigenbewegung. 211
 — *dendriticus*, Bau der Kolonien. 394
 — *ellenbachensis*, Beschreibung. 540.
 — —, Chlamydosporenbildung. 925
 — *filiformis*, Bau der Kolonien. 394
 — *fluorescens aureus*, Bau der Kolonien. 394
 — — *liquefaciens*, Bau der Kolonien. 394

- Bacillus fluorescens liquefaciens*, Beeinflussung der Eigenbewegung. 211
 — — — non liquefaciens, Bau der Kolonien. 394
 — — — —, Beeinflussung der Eigenbewegung. 211
 — *fulvus Zimmermanni*, Bau der Kolonien. 394
 — *fusiformis*, Bildung plasmaarmer Stäbchen. 925
 — *gracilis*, Bau der Kolonien. 394
 — *graveolens* A. M. et Gotth., Beschreibung. 496. 529
 — —, Bildung plasmaarmer Stäbchen. 925
 — *Hartlebi*, Kulturen. 82
 — *hydrophilus fuscus*, Bau der Kolonien. 394
 — *indicus*, Mistzersetzung. 372
 — *indigogenus*, Bau der Kolonien. 394
 — *lactis aërogenes*, Bau der Kolonien. 394
 — — — bei Käseblähung. 928
 — — — in Käse. 749
 — *mallei*, Bau der Kolonien. 394
 — *megatherium*, Bau der Kolonien. 394
 — — — *simlans*, Beeinflussung der Eigenbewegung. 211
 — — —, Fähigkeit Stickstoff zu assimilieren. 260
 — *mesentericus fuscus*, Bau der Oberflächenkolonien. 394
 — — —, Beeinflussung der Eigenbewegung. 211
 — — — in fadenziehendem Brot 109
 — — *ruber*, Beeinflussung der Eigenbewegung. 211
 — — *vulgatus*, Bau der Kolonien. 394
 — — —, Beeinflussung der Eigenbewegung. 211
 — *mycoides*, Beschreibung. 589. 627
 — — *ruber*, Beeinflussung der Eigenbewegung. 211
 — *nitrovorus*, Kulturen. 82
 — *nobilis*, Benutzung zur Käsebereitung. 857
 — *petasites* A. M. et Gotth., Beschreibung. 535
 — *pituitosus*, Beeinflussung der Eigenbewegung. 211
 — *plicatus*, Bau der Kolonien. 394
 — *pneumoniae*, Bau der Kolonien. 394
 — *prodigiosus*, Bau der Kolonien. 394
 — —, Beeinflussung der Eigenbewegung. 211
 — —, Variation. 364
 — *proteus vulgaris*, Beeinflussung der Eigenbewegung. 211
 — — *Zopfii*, Beeinflussung der Eigenbewegung. 211
Bacillus pseudobutyricus, Beeinflussung der Eigenbewegung. 211
 — *pumilus* L. M. et Gotth., Beschreibung. 681
 — *pyocyaneus*, Beeinflussung der Eigenbewegung. 211
 — —, Mistzersetzung. 374
 — —, Verhalten im Milchthermophor. 648
 — *radiciformis*, Bau der Kolonien. 394
 — *ruminatus* A. M. et Gotth., Beschreibung. 485
 — —, Chlamydosporenbildung. 925
 — *septicaemiae haemorrhagicae*, Bau der Kolonien. 394
 — *simplex* A. M. et Gotth., Beschreibung. 685
 — —, Bildung plasmaarmer Stäbchen. 925
 — *solanacearum*, Schnitte von kranken Pflanzen. 196
 — *Stutzeri*, Kulturen. 82
 — *subtilis* auf Kartoffeln. 522
 — —, Bau der Kolonien. 394
 — —, Beeinflussung der Eigenbewegung. 211
 — —, Beschreibung. 633. 680
 — —, Bildung plasmaarmer Stäbchen. 925
 — *syncyanus*, Bau der Kolonien. 394
 — *terrestris*, Beeinflussung der Eigenbewegung. 211
 — theerbraunfarbener, Beeinflussung der Eigenbewegung. 211
 — *tracheophilus* als Erreger einer Pflanzenkrankheit. 95. 128
 — — bei Petersburg. 692
 — —, Schnitte von kranken Pflanzen. 139. 190
 — *tumescens*, Beschreibung. 492
 — *viridis*, Transformation. 363
 — *Zopfii*, Bau der Kolonien. 394
Bacterium aceti, Lebensdauer in verschiedenen Flüssigkeiten. 439
 — *coli commune*, Bau der Kolonien. 394
 — — —, Beeinflussung der Eigenbewegung. 211
 — — — bei Käseblähung. 928
 — — —, Verhalten im Milchthermophor. 649
 — *janthinum*, Bau der Kolonien. 394
 — *Kützingianum*, Lebensdauer in verschiedenen Flüssigkeiten. 439
 — —, Variation. 440
 — *lactis*, Bau der Kolonien. 394
 — *Pasteurianum*, Blaufärbung der Membran mit Jod. 926
 — —, Lebensdauer in verschiedenen Flüssigkeiten. 439
 — —, Variation. 440

- Bacterium solaniferum colorabile* Weil als Solaninbildner. 205
 — — non colorabile Weil als Solaninbildner. 205
 Bakterien, denitrifizierende. 637. 639
 — —, Kulturen mit stickstoffhaltigen Substanzen. 81
 — — eiweißbildende, Eigenschaften und Kultur. 611
 — —, Vorkommen. 611
 — —, Verhalten gegen Stickstoffverbindungen. 612
 — —, — gegen Stickstoffverbindungen bei Gegenwart anderer Bakterien. 613
 — — oligonitrophile, Kultur. 566
 Bakterienkolonien, Bau. 391
 Bakterienzählung mit Hilfe der Plattenmethode. 386
 Bakterienzahl im Käse. 745
 Bakteriologie, Bedeutung für die Lebensmittelkontrolle. 364
 Bakteroiden, Bildung in künstlichen Nährböden. 897
 Baumflüsse, äußere Symptome. 119
 —, Bakterienflora. 345.
 —, Bewohner. 113. 179. 229. 274. 338. 599
 —, Veränderungen des Rindengewebes. 124
Beggiatoa alba in der Elster und Luppe. 397
 Blausäure zur Desinfizierung von Pflanzen. 941
 Blutlaus, Bekämpfung mit Petrolwasser 30
 Bodenbakterien, Artberechtigung. 463
 —, Assimilation von freiem Stickstoff. 601
 —, Diastasebildung. 463
 —, Entwicklung der Zellfäden. 457
 —, Geißeln. 459
 —, Glykogen- und Fettbildung. 460
 —, Größemessung. 461
 —, Literatur. 728
 —, Methode der Beschreibung. 481
 —, normale Entwicklung der Sporangien. 458
 —, Säure- und Alkalibildung. 462
 —, Schwärmen der Sporangien. 459
 —, Sporennuntersuchung. 454
 —, Untersuchung der Keimstäbchen. 457
 —, Variation infolge der Nährböden. 433. 449
 —, Vorkommen. 483
 —, Vorkommen und Kulturmethoden. 430
 —, Zerfall der sporenbildenden Zellfäden. 458
 Bodenimpfung, neue Probleme. 22
 Bodenreinigung der Flüsse. 76
 Bordeauxbrühe gezuckerte, von Bienen gemieden. 660
Bosmina longirostris in der Luppe. 399
Bostrychus als Kakaoschädling. 916
Botriodiplodia theobromae als Kakaoschädling. 922
Botryosporium pulchrum auf Weizenpflanzen. 938
 — —, identisch mit *B. diffusum*. 938
Botrytis cinerea auf Kartoffeln. 522
 — — bei Petersburg. 692
 — — vulgaris als Ursache der Salatkrankheit. 469
 Botrytiaskrankheit der Salatpflanzen. 469
 —, Immunsierung der Begonien. 940
Brachionus amphicerus in der Elster. 398
 — — angularis in der Elster. 398
 — — brevispinus in der Elster und Luppe. 398
 — — falcatus in der Luppe. 399
 — — pala in der Luppe. 399
Brassica napus, Bakterienkrankheit. 282. 353
 Braugewerbe, Handbuch. 926
 Brauereihefen, Vergärung von Zuckerarten. 466
Broomella ichnaspidis Zimm. auf Cocciden. 874
 — — — var. major Zimm. auf Cocciden. 875
 Brot fadenziehendes, Bakteriologie. 109
Bruchus pisorum in Kanada. 699
 Buprestidenlarve als Kakaoschädling. 915
 Butter, Zersetzung durch Schimmelpilze. 29
 Butterfehler, Bekämpfung durch Pasteurisieren. 852
Callichroma elegans als Kakaoschädling. 917
Calonectria coffeae Zimm. auf Kaffee. 139
 — — cremae Zimm. auf Kakao. 140. 922
 — — meliae Zimm. auf *Melia azedarach*. 106
Caloptenus spretus in Kanada. 699
Cantharomyces platystethi Thaxt. auf *Platystethus cornutus*. 518
Capnodium salicinum bei Petersburg. 692
Carchesium Lachmanni in der Elster und Luppe. 398
 Carlsberg Unterhefe I, sporenlose Varietät. 200
 — —, Variation. 199
Cecidomyia destructor in Kanada. 699
Cephus pygmaeus in Kanada. 699
Ceratomyces acuminatus Thaxt. auf *Berosus*. 521
 — — californicus Thaxt. auf *Tropisternus dorsalis*. 521

- Ceratomyces cladophorus* Thaxt. auf *Tropisternus nimbatus*. 521
 — *denticulatus* Thaxt. auf einer Hydrophilide. 521
 — *elephantinus* Thaxt. auf *Hydrobius*. 521
 — *floridanus* Thaxt. auf *Tropisternus glaber*. 521
 — *ornithocephalus* Thaxt. auf *Berosus striatus*. 521
 — *reflexus* Thaxt. auf *Phaenonotum estriatum*. 521
 — *rhynchophorus* Thaxt. auf *Phaenonotum estriatum*. 521
Cercospora angulata in New York. 892
 — *cerasella* bei Dürrfleckenkrankheit des Steinobstes. 655
 — *circumscissa* bei Dürrfleckenkrankheit des Steinobstes. 655
 — *coffeifoliella* auf Kaffee. 472
 — *consobrina* bei Dürrfleckenkrankheit des Steinobstes. 655
 — *prunicola* bei Dürrfleckenkrankheit des Steinobstes. 655
 — *resedae* bei Petersburg. 692
 — *rubrocincta* bei Dürrfleckenkrankheit des Steinobstes. 655
Cercosporella persicae bei Dürrfleckenkrankheit des Steinobstes. 655
Chaetodiplodia coffeae Zimm. auf Kaffee. 143
Chionaspis furfurus, Vorkommen an Früchten. 605
Chitonomyces aethiopicus Thaxt. auf *Orectochilus specularis*. 519
 — *floridanus* Thaxt. auf *Cnimidotus 12-punctatus*. 519
Chlamydomucor oryzae, Beschreibung. 318
*Cholera*vibrionen, Beeinflussung der Eigenbewegung. 212
 —, Desinfektion mit Brom. 701
Chrysophlyctis endobiotica auf Kartoffeln. 522
Cladosporium cerasi, Infektionen. 656
 — *condylonema* bei Dürrfleckenkrankheit des Steinobstes. 655
 — *herbarum* in Norwegen. 470
Cladotrix dichotoma, Bau der Kolonien. 394
 — — in der Elster und Luppe. 398
Clasterosporium amygdalearum, identisch mit *Coryneum Beijerinckii*. 656
 — *carophilum* bei Dürrfleckenkrankheit des Steinobstes. 655
Claviceps purpurea bei Petersburg. 692
Clematomyces Thaxt., Diagnose. 520
 — *pinophili* Thaxt. auf *Pinophilus*. 520
Clinodiplosis vitis Lüstner am Weinstock. 552
Clonostachys theobromae als Kakao-schädling. 923
Closterium acerosum in der Elster und Luppe. 398
 — *Pritchardianum* in der Elster. 398
Clostridium butyricum auf Kartoffeln. 522
Colletotrichum gloeosporioides auf Orangenbäumen. 471
 — *incarnatum* Zimm. auf Kaffee. 143
Colobothoa als Kakao-schädling. 917
Compsoomyces lestevae Thaxt. auf *Lesteva sicula*. 520
Coniferennadeln, Pilzparasiten. 441
Coprinus micaceus, Sporenenkennung. 937
Corethromyces brasiliensis Thaxt. auf *Cryptobium*-Arten. 520
 — *purpurascens* Thaxt. auf *Cryptobium*-Arten. 520
Corticium javanicum Zimm. auf Kaffee. 102
Cosmopteryx als Kakao-schädling. 919
Crenothrix polyspora in der Elster und Luppe. 397
Curculionidenlarve als Kakao-schädling. 916
Cyanophyceen, oligonitrophische Arten. 562
Cycas revoluta, Untersuchung der Wurzelknöllchen. 939
Cylindrosporium padi bei Dürrfleckenkrankheit des Steinobstes. 655
 — — in New York. 892
Cymatopleura solea in der Elster und Luppe. 398
Cystopus candidus auf Radieschen. 732
Dactylopius als Kakao-schädling. 920
 Dänemark, Pflanzenkrankheiten von 1898. 469
 Degeneration von Mikroben. 363
Dematium pullulans, innere Conidienbildung. 152
Dematophora necatrix in New York. 892
Dendroctonus in Nordamerika. 473
 Denitrifikation im Boden, Versuche mit Stallmist. 23
 Dextrose, Vergärung durch Hefen. 166. 215
 Diapsinen, Widerstandsfähigkeit gegen äußere Einflüsse. 605
Dichomyces angolensis Thaxt. auf *Philonthus*. 518
 — *biformis* Thaxt. auf *Philonthus*. 519
 — *cafiensis* Thaxt. auf *Cafius puncticeps*. 519
 — *dubius* Thaxt. auf *Philonthus*. 519
 — *exilis* Thaxt. auf *Philonthus xanthomerus*. 518
 — *hybridus* Thaxt. auf *Philonthus*-Arten. 519
 — *javanus* Thaxt. auf *Philonthus*. 518
 — *insignis* Thaxt. auf einer *Staphylice*. 518

- Dichomyces madagascarensis* Thaxt. auf *Philonthus sikorae*. 519
 — *peruvianus* Thaxt. auf *Brachyderus simplex*. 519
 — *vulgatus* Thaxt. auf *Philonthus*-Arten. 519
Dictydium umbilicatum, Entwicklung. 600
Didymaria prunicola bei Dürrfleckenkrankheit des *Steinobstes*. 655
Didymella citri Noack auf Orangenbäumen. 471
Diffugia pyriformis in der Elster. 398
Dimeromyces nanomasculus Thaxt. auf *Ardistomis viridis*. 518
 — *pinnatus* Thaxt. auf *Ardistomis*. 517
Dimorphomyces myrmedoniae Thaxt. auf *Myrmedonia flavicornis*. 517
 — *thleophorae* Thaxt. auf *Thleophora corticalis*. 617
Dinobryum sertularia in der Elster. 398
Diphtheriebacillen, Bau der Kolonien. 394
 —, Verhalten im Milchthermophor. 649
Diplodia cacaicola als Kakaoschädling. 922
Diplosis tritici in Kanada. 699
 Edamer Käse, Reifung. 817
 Eichhörnchen schädlich für Kakao. 915
 Eigenbewegung der Bakterien, äußere Beeinflussung. 209
 Elster, Mikrofauna und -flora. 396
 Enchytraeiden in Kaffeewurzeln. 602
 Endotrypsin in Hefe. 394
 Engerlinge an Kaffeewurzeln. 472
Entedon epigomes als Parasit der Hessenfliege. 602
Entorrhiza solani auf Kartoffeln. 522
Ephestia elutella als Kakaoschädling. 919
 — *spec.* als Kakaoschädling. 919
Eriodendron anfractuosum, Schäden durch Käfer. 472
Erysiphe communis bei Petersburg. 692
 — —, Haustorien. 468
 — *Martii* bei Petersburg. 692
Erysipheen, Haustorien. 468
 Essigsäurebakterien, Aufbewahrung. 499
 —, Variation. 499
Eucantharomyces africanus Thaxt. auf *Callida*-Arten. 518
 — *callidae* Thaxt. auf *Callida*. 518
 — *casnoniae* Thaxt. auf *Casnonia subdistincta*. 518
 — *catacopi* Thaxt. auf *Catacopus*. 518
 — *diaphori* Thaxt. auf *Diaphorus tenuicornis*. 518
 — *euprocti* Thaxt. auf *Euproctus quadrinus*. 518
 — *spinosus* Thaxt. auf *Drypta*. 518
Eucorethromyces apotomi Thaxt. auf *Apotomus*-Arten. 520
 — Thaxt., Diagnose. 520
Eurycreon sticticalis, Entwicklung und Bekämpfung. 939
Euzoidiomyces Thaxt., Diagnose. 521
 — *lathrobii* Thaxt. auf *Latrobium*-Arten. 521
Exoascus deformans, Bekämpfung. 669
 — *theobromae* als Kakaoschädling. 922
 Feldmäuse, Bekämpfung durch den Mäusebacillus. 524
 Fleckenkrankheit der Veilchen, Monographie. 669
Fragilaria construens in der Elster. 398
 — *crotonensis* in der Elster und Luppe. 398
Fusarium acuminatum auf Kartoffeln. 522
 — *album* als Kakaoschädling. 923
 — *gemmaiperda* Aderh. auf Sauerkirschen. 657
 — *solani* auf Kartoffeln. 522
 Fusicladien der Obstbäume, Bespritzungsversuche. 661
 — *dendriticum* bei Petersburg. 692
 — — in Norwegen. 470
Fusoma parasiticum, Infektionsversuche. 444
 Gärung, alkoholische, Untersuchung des Hefepresssaftes. 809
 —, Verhalten zum Sauerstoff. 305
 Getreideroste, Infektionsversuche. 696
 Getreiderostpilze in Schweden. 730
Glenea novempunctata als Kakaoschädling. 917
Gloeosporium affine als Kakaoschädling. 923
 — *ribis* in New York. 892
 — *Spegazzinii* auf Orangenbäumen. 471
Gracilaria coffeifoliella an Kaffee. 472
Granulobacter sphericum, Kultur. 573
Graphium coffeae Zimm. auf Kaffee. 145
Graptolitha prunivora in Kanada. 700
 Gummosis des Kakao. 923
Gymnosporangium juniperinum, zugehörige Roestelien. 445
 — *tremelloides*, zugehörige Roestelien. 445
Gymnosporangium-Arten in New York. 892
 Hadenaruppen in Kanada. 699
 Harnspaltung durch Katabolismus. 58
 Harnzersetzung, Nachweis. 38
 Hausschwamm, chemische Reaktionen zur Erkennung. 779
 —, Lebensweise. 775
Hedysarum obscurum, Bakterien in den Wurzeln. 301

- Hefe Froberg, Gärung unter verschiedenen Bedingungen. 504
 — Johannisberg II, sporenlose Varietät. 200
 — Logos, Gärung unter verschiedenen Bedingungen. 505
 — obergärige, Gewinnung von Preßsaft. 25
 — untergärige mit obergärigem Charakter. 891
 Hefen, Agglutination. 623
 — der Anomalus-Gruppe, Vergärung von Zuckerarten. 466
 —, Einfluß des Vegetationszustandes auf Vermehrung und Gärung. 497
 — Entstehen sporenloser Varietäten durch Transmutation. 201
 — getrocknete, Lebensdauer. 438
 — ober- und untergärige, Vergärung von Zuckerarten. 466
 —, Proteolyse. 794
 —, sporenlose Varietäten. 200
 — Variation der Gestalt. 199
 —, Veranlassung der Flockenbildung in der Technik. 626
 —, Verwandtschaft. 846
 — wilde, Vergärung von Zuckerarten. 466
 Hefenzyme, Verhalten gegen Alkohol. 851
 Hefenpreßsaft aus obergäriger Hefe, Eigenschaften. 26
 —, Verhalten. 74
 Hefenwasser, Brauchbarkeit zu Kulturen. 892
 Hefenzellen abgetötete, chemische Vorgänge im Innern. 737
 Helminthophana nycteribiae, Verbreitung. 847
 Helopeltis auf Kakao. 472
 — Antonii als Kakaoschädling. 919
 — Bradyi als Kakaoschädling. 919
 Hemileia vastatrix, Bekämpfung. 472
 Hendersonia cerasella bei Dürrfleckenkrankheit des Steinobstes. 655
 — foliorum bei Dürrfleckenkrankheit des Steinobstes. 655
 — marginalis bei Dürrfleckenkrankheit des Steinobstes. 655
 — speciosa bei Dürrfleckenkrankheit des Steinobstes. 655
 Hessenfliege, Parasiten in Rußland. 602
 Heterodera radicola, Histologie der Gallen. 521
 — —, Lebensweise in Wasser. 557
 Horicola als Kakaoschädling. 920
 Hydrodictyum reticulatum in der Elster. 398
 Hylesinus in Nordamerika. 473
 Hymenochaete leonina als Kakaoschädling. 921
 Hypochnus gardeniae Zimm. auf Gardenia florida. 102
 Hypocrella Raciborskii Zimm. auf Cocoiden. 875
 Hypoderma pinicola auf Coniferennadeln. 441
 — robustum Tub., Beschreibung. 441
 — strobicoli auf Coniferennadeln. 441
 Hypodermella laricis, Beschreibung. 441
 — sulcigena auf Coniferennadeln. 441
 Indigo, Bildung in den Indigopflanzen. 155
 Indigofera, Entstehung des Indigo. 156
 Infektionshaus der biologischen Abteilung des Reichsgesundheitsamtes. 444
 Insekten forstschädliche in Nordamerika. 473
 Isatis tinctoria, Entstehung des Indigo. 155
 Isidium als Kakaoschädling. 923
 Isosoma auf Weizen in Kanada. 699
 Käse geblähte, bakteriologische Untersuchungen. 928
 Käsureifung, Versuche. 743. 769
 — Zunehmen der Säurebakterien. 747
 Kaffee, Erkrankung durch einen Bohrkäfer. 603
 —, Nematodenkrankheit. 522
 Kaffeekrankheiten auf Java. 471
 Kahlmiefen, Vergärung von Zuckerarten. 466
 Kakaoparasiten, Litteratur. 923
 —, Uebersicht. 914
 Kalkhydrat, Einwirkung auf die Keimung. 477
 Kartoffel, Krankheiten in Brasilien. 522
 Kartoffelkrankheit, Bekämpfung. 850
 Katalase im Tabak. 251
 Kieferkrankheiten, der Schütte ähnliche. 444
 Knochenmehl, Zersetzung durch Bakterien. 752
 Knöllchenbakterien der Lupine, Kultur. 910
 — von Ornithopus, Kultur. 912
 — von Phaseolus vulgaris, Kultur. 909
 — von Pisum sativum, Kultur. 897
 — von Soja hispida, Kultur. 912
 — von Trifolium hybridum, Kultur. 908
 — von Trifolium pratense und incarnatum, Kultur. 907
 — von Vicia faba, Kultur. 908
 — von Vicia sativa und villosa, Kultur. 909
 Kohlehydrate, Vergärung durch Hefen. 161. 215
 Konidienbildung, innere. 152
 Kräuselkrankheit der Pflirsiche, Monographie. 669
 Kulturpflanzen tropische, parasitische Pilze. 101. 139

- Labgerinnung, Bedeutung des Säuregehaltes. 926
Laboulbenia acrogenis Thaxt. auf *Acrogenis hirsuta*. 514
 — *adunca* Thaxt. auf *Galerita unicolor*. 514
 — *aequatorialis* Thaxt. auf *Casnonia*. 515
 — *aerogenidii* Thaxt. auf *Aerogenidium bedeli*. 514
 — *anaplogenii* Thaxt. auf *Anaplogenus circumcinctus*. 514
 — *anchonoderi* Thaxt. auf *Anchonoderus*-Arten. 514
 — *angularis* Thaxt. auf *Galerita unicolor*. 514
 — *anomala* Thaxt. auf *Orectogyrus*-Arten. 514
 — *aquatica* Thaxt. auf *Gyretes*. 514
 — *aristata* Thaxt. auf *Pericallus*. 514
 — *asiatica* Thaxt. auf *Casnonia*. 514
 — *assamensis* Thaxt. auf *Catascopus*. 514
 — *barbata* Thaxt. auf *Morio*-Arten. 514
 — *bicornis* Thaxt. auf *Dineutes*-Arten. 514
 — *bidentata* Thaxt. auf *Homothis*. 514
 — *brachionychi* Thaxt. auf *Brachionus* und *Episcosoma*. 514
 — *cafi* Thaxt. auf *Cafius*-Arten. 514
 — *celestialis* Thaxt. auf *Drypta lineolata*. 514
 — *ceratophora* Thaxt. auf *Serrimargo* und *Miscelus*. 514
 — *ceylonensis* Thaxt. auf *Hexagonia*. 514
 — *chiriquensis* Thaxt. auf *Calleida scintillans*. 514
 — *clivinalis* Thaxt. auf *Clivina collaris*. 515
 — *coarctata* Thaxt. auf *Orectochilus*. 515
 — *colpodis* Thaxt. auf *Colpodes chiriquensis*. 515
 — *constricta* Thaxt. auf *Orectogyrus glaucus*. 515
 — *coptae* Thaxt. auf *Coptea armata*. 515
 — *corethropsis* Thaxt. auf *Miscelus*-Arten. 515
 — *corrugata* Thaxt. auf *Serrimargo guttiger*. 515
 — *cupensis* Thaxt. auf *Dineutes longimanus*. 515
 — *dactylophora* Thaxt. auf *Orectogyrus specularis*. 515
 — *darwinii* Thaxt. auf *Oezena parallela*. 515
 — *denticulata* Thaxt. auf *Dineutes*. 515
 — *dercylus* Thaxt. auf *Dercylus tenebrius*. 515
Laboulbenia dinentis Thaxt. auf *Dineutes*-Arten. 515
 — *dictincta* Thaxt. auf *Pericallus caeruleovirens*. 515
 — *drepanalis* Thaxt. auf *Gyretes*-Arten. 515
 — *egae* Thaxt. auf *Ega*-Arten. 515
 — *erecta* Thaxt. auf *Colpodes*-Arten. 515
 — *falcata* Thaxt. auf *Casnonia*. 515
 — *fallax* Thaxt. auf *Gyretes*-Arten. 515
 — *finitima* Thaxt. auf *Pericallus*-Arten. 515
 — *fissa* Thaxt. auf *Pericallus*-Arten. 515
 — *forficulata* Thaxt. auf *Thyreopterus striantus*. 515
 — *geniculata* Thaxt. auf *Galerita*. 515
 — *gibbifera* Thaxt. auf *Dercylus tenebrius*. 515
 — *heterocheila* Thaxt. auf *Dineutes*. 515
 — *javana* Thaxt. auf *Pericallus cicindeloides*. 516
 — *imitans* Thaxt. auf *Nycteis*. 516
 — *insularis* Thaxt. auf *Bembidium*-Arten. 516
 — *intermedia* Thaxt. auf *Anisodactylus tricuspoidatus*. 516
 — *italica* Thaxt. auf *Brachinus ex-plodens*. 516
 — *leucophaea* Thaxt. auf *Serrimargo guttiger*. 516
 — *loxandri* Thaxt. auf *Loxandrus unistigma*. 516
 — *maculata* Thaxt. auf *Serrimargo guttiger*. 516
 — *madagascarensis* Thaxt. auf *Harpalus*. 516
 — *madeirae* Thaxt. auf *Calathus complanatus*. 516
 — *malayensis* Thaxt. auf *Pericallus coeruleovirens*. 516
 — *melanaria* Thaxt. auf *Diachromus* und *Anisodactylus*. 516
 — *melanopus* Thaxt. auf *Carabiden*. 516
 — *microscopica* Thaxt. auf *Pelmatellus nitens*. 516
 — *microsoma* Thaxt. auf *Serrimargo guttiger*. 516
 — *minimalis* Thaxt. auf *Galerita*. 516
 — *misceli* Thaxt. auf *Miscelus*. 516
 — *obtusa* Thaxt. auf *Acrogenidion bedeli*. 516
 — *oedodactyli* Thaxt. auf *Oedodactylus fuscubrunneus*. 516
 — *copteri* Thaxt. auf *Oopterus rotundicollis*. 516
 — *ophoni* Thaxt. auf *Ophonus* und *Harpalus*. 516
 — *orectochili* Thaxt. auf *Orectochilus cordatus*. 516

- Laboulbenia orientalis* Thaxt. auf *Brachinus chinensis*. 516
 — *orthomi* Thaxt. auf *Orthomus aquilus*. 516
 — *papua* Thaxt. auf *Morio*. 516
 — *pericalli* auf *Pericallus* und *Miscelus*. 516
 — *platystoma* Thaxt. auf *Catoscopus*. 516
 — *polyhirmiae* Thaxt. auf *Polyhirmia*. 516
 — *prominens* Thaxt. auf *Pericallus guttatus*. 517
 — *protrudens* Thaxt. auf *Pericallus cicindeloides*. 517
 — *pseudomasci* Thaxt. auf *Pseudomascus nigrita*. 517
 — *punctata* Thaxt. auf *Galerita*. 517
 — *punctulata* Thaxt. auf *Pachyteles*-Arten. 517
 — *pygmaea* Thaxt. auf *Trichognathus* und *Galerita*. 517
 — *rhizophora* Thaxt. auf *Brachinus*. 517
 — *rostellata* Thaxt. auf *Brachinus*-Arten. 517
 — *separata* Thaxt. auf *Pericallus guttatus*. 517
 — *serrimarginis* Thaxt. auf *Serrimargo guttiger*. 517
 — *speciosa* Thaxt. auf *Galerita unicolor*. 517
 — *spiralis* Thaxt. auf *Hexagonia*. 517
 — *strangulata* Thaxt. auf *Orectochilus*. 517
 — *subconstricta* Thaxt. auf *Catoscopus*. 517
 — *sumatrae* Thaxt. auf *Catoscopus capripennis*. 517
 — *taenodema* Thaxt. auf *Taenodema*. 517
 — *tenuis* Thaxt. auf *Miscelus* und *Catoscopus*. 517
 — *thyropteri* Thaxt. auf *Thyropterus flavosignatus*. 517
 — *tibialis* Thaxt. auf *Brachinus*. 517
 — *tortuosa* Thaxt. auf *Pachyteles testaceus*. 517
 — *trichognathi* Thaxt. auf *Trichognathus*-Arten. 517
 — *trordinata* Thaxt. auf *Calophaena*, *Cordistes* und *Helluomorpha*. 517
 — *tuberculifera* Thaxt. auf *Serrimargo guttiger*. 517
 — *uncinata* Thaxt. auf *Harpalus aeneus*. 517
 — *verrucosa* Thaxt. auf *Platynus*. 517
Laboulbeniaceen, neue Arten. 513
Laetadia Bidwellii in New York. 892
 — *microspora* in Dänemark. 470
Lävulose, Vergärung durch Hefen. 166. 215
Landwirtschaft in Südamerika. 663
Latoia lepida als Kakaoeschädling. 918
Lecanium viride, Bekämpfung durch Blausäure. 472
 — —, Vernichtung durch einen Pilz. 603
Leguminosensknöllchen, Verhalten gegen Wasserkulturen. 70
Leptomitus lacteus in der Elster und Luppe. 398
Limnaiomyces Thaxt., Diagnose. 519
 — *hydrocharis* Thaxt. auf *Hydrocharis obtusatus*. 519
 — *tropisterni* Thaxt. auf *Tropisternus*. 519
Lisea parlatoriae Zimm. auf *Cocciden*. 873
Lophodermium abietis auf Coniferennadeln. 441
 — *gilvum* auf Coniferennadeln. 441
 — *juniperium* auf Coniferennadeln. 441
 — *laricinum* auf Coniferennadeln. 441
 — *macrosporum* auf Coniferennadeln. 441
 — *nervisequium* auf Coniferennadeln. 441
 — *pinastri* auf Coniferennadeln. 441
 — —, Morphologie. 442
Loranthaceen auf Kakao. 921
Lupine blaue, Verhalten der Knöllchenbakterien. 552
 — *perennierende*, Verbreitung der Knöllchenbakterien. 238
 — *weiße*, Verhalten der Knöllchenbakterien. 551
Luppe, Mikrofauna und -flora. 396
Lyda, Bekämpfungsmittel. 556
Macrophoma vestita als Kakaoeschädling. 923
Malz, Verhindern des Schimmeln. 438
Marssonia juglandis in Italien. 850
Mastigocerca hamata in der Elster. 398
Melampsora allii-fragilis Kleb., Infektionsversuche. 693
 — auf *Populus*, Infektionsversuche. 695
 — *evonymi-caprearum*, Infektionsversuche. 695
 — *larici-caprearum*, Infektionsversuche. 695. 696
 — *larici-epitea*, Infektionsversuche. 694
 — *larici-pentandrae*, Infektionsversuche. 695
 — *ribesii-auritae* Kleb., Infektionsversuche. 693
 — *ribesii-purpureae* Kleb., Infektionsversuche. 693
 — *ribesii-viminalis*, Infektionsversuche. 693. 696
 — *salicis albae* Kleb., Infektionsversuche. 694
 — *vaccinii* bei Petersburg. 692
Melampsora-Arten auf Weiden, Bestimmungstabelle. 694

- Melanomma Henriquesianum als Kakao-
 schädling. 922
 Melasnia podanthi Magn. auf Podan-
 thum lanceolatum. 764
 Melken aseptisches. 831
 Melolontha als Kakaoschädling. 915
 Melosira varians in der Elster und
 Luppe. 398
 Merisus intermedius als Parasit
 der Hesenfliege. 602
 Meromyza americana in Kanada. 699
 Merulius lacrymans siehe Haus-
 schwamm.
 Metallsalze zur Vertilgung von Acker-
 unkräutern. 852
 Micrococcus agilis, Bau der Kolonien.
 394
 — candidans, Bau der Kolonien. 394
 — concentricus, Bau der Kolonien. 394
 — luteus, Bau der Kolonien. 394
 — radiatus, Bau der Kolonien. 394
 — roseus, Bau der Kolonien. 394
 — tetragenus flavus, Bau der Kolo-
 nien. 394
 — — ruber, Bau der Kolonien. 394
 — ureae siehe Urococcus ureae.
 — versicolor, Bau der Kolonien. 394
 Milch sterilisierte des Handels, Bak-
 teriengehalt. 762
 Milchbakterien, Verhalten im Milch-
 thermophor. 240. 649
 Milchgerinnung, Hemmung. 437
 Milchhygiene, Ausführung. 475
 Milchsäurebakterien, Variabilität des
 Gärungsvermögens. 107. 239
 Milchsterilisierung durch Wasserstoff-
 superoxyd. 705
 — in den Sammelmolkereien. 407
 —, neuer Apparat. 406
 Milchthermophor, Abtötung der Milch-
 bakterien. 240
 —, Einwirkung auf Bakterien. 640. 646
 —, Nachteile gegenüber dem Soxhlet-
 apparat. 652
 Milzbrandbacillen, Bau der Kolonien.
 394
 Misgomyces Thaxt., Diagnose. 521
 — dyschirii Thaxt. auf Dyschirius glo-
 bosus. 521
 — stomonaxi Thaxt. auf Stomonaxus
 straticollis. 521
 Mist, Zersetzung durch Bakterien. 369
 Möhrenfäule, Auftreten bei anderen
 Pflanzen. 14
 —, Bekämpfung und Verhütung. 67
 —, Fortschreiten der Krankheit. 15
 —, künstliche Uebertragungen. 15
 —, pathologische Histologie. 14
 —, Vorkommen. 12
 Mollierella sirih Zimm. auf Piper betle.
 140
 Monilia caudida auf Nahrungsmitteln.
 552
 — fructigena bei Petersburg. 692
 — — in Norwegen. 470
 — sitophilla Went, Ernährungsbe-
 dingungen. 548. 591
 — —, Morphologie. 545
 Monoicomyces britannicus Thaxt. auf
 Homalota insecta. 518
 — Thaxt., Diagnose. 518
 — homalotae Thaxt. auf Homalota
 putrescens. 518
 — invisibilis Thaxt. auf Homalota
 putrescens. 518
 — St. Helenae Thaxt. auf Oxytelus
 alutaceifrons. 518
 Mosaikkrankheit des Tabaks, Bekäm-
 pfung. 733
 — des Tabaks, Ursache. 148
 Moschusfluß, Auftreten. 352
 Mucor cambodja Chrząszcz, Beschrei-
 bung. 334
 — —, Morphologie. 328
 — —, Physiologie. 331
 — dubius Wehm., Beschreibung. 318
 — mucedo, Einwirkung auf Butter. 29
 — Rouxii, Fehlschlagen der Sporangien.
 599. 913
 — —, Kultur. 335
 Mycoderma, Proteolyse. 796
 Mycosphaerella cerasella Aderh. als Peri-
 thecienform zu Cercospora cerasella.
 655
 — Loeffgreni Noack auf Orangenbäumen.
 470
 Mycorrhiza endotrophe bei Neottia,
 Histologie der Wurzeln. 296
 — — bei Neottia, Infektion. 292
 — — bei Neottia, Morphologie. 292
 — — bei Neottia, Verhältnis zur
 Wirtspflanze. 299
 Myriangium Durieui auf Cocciden. 876
 Mytilaspis pomorum, Vorkommen an
 Früchten. 605
 Myxosporium theobromae als Kakaos-
 schädling. 923
 Nahrungs- und Genußmittel, mikro-
 skopische Untersuchung. 474
 Necator decretus, Auftreten auf Java.
 145
 Nectria Bainii als Kakaoschädling. 922
 — coccidophthora Zimm. auf Cocciden.
 872
 — coffeicola Zimm. als Kakaoschädling.
 922
 — — auf Kaffee. 103
 — — var. ochroleuca Zimm. auf
 Kaffee. 105
 — striatospora Zimm. auf Kakao. 105
 Nekrobiosis. 156
 Nekrosis. 156
 Nematoden der Rüben, Bekämpfung. 445

- Nematoden des Kaffees, Bekämpfung. 472. 557
- Nematoden des Kaffees, Eindringen in den Boden. 557
- Nematospora coryli Pegl. auf Haselnuß. 754
- , septematische Stellung 760
- Nitragin, Erhöhung der Wirkung. 238
- Nitratbildner, Biologie. 172
- , Reinkultur. 169
- , Morphologie. 170
- , Kultur auf Nitritagar. 170
- , Verhalten gegen organische Stoffe. 171
- Nitratgärung im Boden. 936
- Nitritbildner, Differenzen der Angaben von Winogradsky und Stutzer. 177
- , Morphologie. 176
- , Nährsubstrat. 173
- , Reinzüchtung. 175
- , Verhalten zu organischen Stoffen. 176
- Nitzschia acicularis in der Elster und Luppe. 398
- linearis in der Elster. 398
- sigmoidea in der Elster und Luppe. 398
- Nonnenraupen, Biologie. 733
- , Impfung mit Pebrina. 734
- Norwegen, Pflanzenkrankheiten von 1898. 470
- Obstbäume, Schutz gegen Pilzkrankheiten. 411
- , Schutz gegen Thiere. 476
- Obstfrüchte, Krankheiten in New York. 892
- Obstschildläuse amerikanische, Unterscheidungsmerkmale. 605
- Oedocephalum albidum, Sporeneimung. 937
- Oidium des Weines, Bekämpfung durch Soda. 478
- — —, Bekämpfung durch Spritzmittel. 523
- — —, Bekämpfung mit Kupfer. 412
- — —, Schnelligkeit der Verbreitung. 524
- haplophylli Magn. auf Haplophyllum Buxbaumii. 764
- lactis, Einwirkung auf Butter. 29
- , innere Konidienbildung. 152
- Ludwigii, Beschreibung. 185
- , Gärfähigkeit. 187
- , Konidienbildung. 234. 274. 338
- , Kultur. 341
- , Mycelbildung. 231
- Oligonitrophilie, Definition. 561
- Oospora flagellum auf Leinkuchen. 552
- otophila, Wirkung bei der Käsebereitung. 552
- rubens Harz auf Pflaumen und Heu. 552
- scabies auf Kartoffeln. 522
- Ophionectria coccicola auf Cocciden. 874
- coccicola auf Orangenschildläusen. 471
- Orangenbäume, Pilzkrankheiten in Brasilien. 470
- Oreta extensa auf Kaffee. 472
- Oscinis carbonaria in Kanada. 699
- Ovularia circumscissa bei Dürrfleckenkrankheit des Steinobstes. 655
- Oxydase, Abtötungstemperatur. 674
- Oxydasen bei der Tabakfermentation. 2
- Oxydationsvorgänge im Flußwasser. 75
- Palomyxa tarda in der Luppe. 399
- Pampyloporium Magn. 764
- Pandorina morum in der Elster und Luppe. 398
- Paramaecium putrinum in der Elster und Luppe. 398
- Pathogenität eines Organismus, Beweise dafür. 90
- Pediastrum duplex in der Luppe. 398
- Pemphigus Poschingeri, Lebensgeschichte. 553
- Peniophora coffeae Zimm. auf Kaffee. 102
- Periconia coffeae Zimm. auf Kaffee. 144
- Peridermium pini, Infektionsversuche. 695
- strobi, Infektion von Ribes. 445
- Peronospora parasitica auf Radieschen. 731
- viticola, Bekämpfung durch Spritzmittel. 412. 523
- — in Italien. 850
- Peroxydasen bei der Tabakfermentation. 3
- Petrolwasser zur Bekämpfung der Blutlaus. 30
- Peyritschia amazonica Thart. auf einer Staphilinide. 517
- protea Thart. auf Bledius, Oxytelus und Acrognathus. 519
- Pfirsich, Bekämpfung der Kräuselkrankheit. 669
- Pflanzenkrankheiten in Georgia und Florida. 554
- in Italien. 850
- in Kanada. 699
- bei Petersburg. 692
- Pflanzenläuse, Bekämpfung durch Wasch- und Spritzmittel. 734
- der Blutlaus ähnlich. 404
- Pflanzenschutz, Jahresbericht für 1899. 523
- Phacopsora ampelopsidis, Vorkommen. 156
- chretiae, Vorkommen. 157
- Phacus pleuronectes in der Elster. 398
- Phajus grandiflorus, Entstehung des Indigo. 156
- Phelipaea ramosa als Tabakschmarotzer. 733
- Philaenus, Biologie. 812

- Phorbia brassicae* in Kanada. 699
Photobacter degenerans, Degeneration. 363
 — *indicum*, Variation. 364
 — *luminosus*, Transformation. 363
 — *splendidum*, Variation. 364
 — *splendor maris*, Variation. 364
Phragmidium potentillae, neue Nährpflanzen. 467
 — *rubi idaei* bei Petersburg. 692
Phyllachora trifolii bei Petersburg. 692
Phyllactinia, Haustorien. 469
Phyllosticta Beijerinckii bei Dürffleckenkrankheit des Steinobstes. 655
 — *circumscissa* bei Dürffleckenkrankheit des Steinobstes. 655
 — *grossulariae* bei Petersburg. 692
 — *persicae* bei Dürffleckenkrankheit des Steinobstes. 655
 — *persicola* bei Dürffleckenkrankheit des Steinobstes. 655
 — *pruni avium* bei Dürffleckenkrankheit des Steinobstes. 655
 — *prunicola* bei Dürffleckenkrankheit des Steinobstes. 655
 — *ribicola* bei Petersburg. 692
 — *vulgaris* var. *cerasi* bei Dürffleckenkrankheit des Steinobstes. 655
Physarum leucophaeum, Amöben hefe-fressend. 890
Phytophthora auf *Myristica fragrans*. 141
 — *infestans* in Italien. 850
 — *omnivora* als Kakaoschädling. 921
Phytoptus ilicis in Algier. 782
Pilobolus crystallinus, Beschreibung. 849
 — *heterosporus*, Beschreibung. 849
 — *Kleinii*, Beschreibung. 849
 — *longipes*, Beschreibung. 849
 —, Monographie. 847
 — *nanus*, Beschreibung. 849
 — *oedipus*, Beschreibung. 849
 — *roridus*, Beschreibung. 849
 — *sphaerosporus*, Beschreibung. 849
Pirus malus chinensis, Kropfmaserbildung. 850
 Planktonuntersuchung bei Flüssen. 75
Planosarcina ureae Beijer., Beschreibung. 52
Plasmodiophora brassicae bei Petersburg. 692
 — — in Dänemark. 470
Pleospora dissiliens Magn. 764
Plowrightia morbosa in New York. 892
Podosphaera myrtilina bei Petersburg. 692
Poecilocapsus lineatus, Vorkommen in Kanada. 700
Polyascomyces Thaxt., Diagnose. 518
 — *trichophyae* Thaxt. auf *Trichophya pilicornis*. 518
Polygnotus minutus als Parasit der Hessefliege. 602
Polygonum tinctorium, Entstehung des Indigo. 156
 Presshefen, Vergärung von Zuckerarten. 466
Proteus mirabilis, Bau der Kolonien. 394
 — *sulfureus*, Bau der Kolonien. 394
 — *vulgaris*, Bau der Kolonien. 394
 — —, Verhalten im Milchthermophor. 649
Protomyces theae Zimm. in Theewurzeln. 140
Pseudocommis vitis auf Kartoffeln. 522
Pseudomonas campestris, Schnitte von kranken Pflanzen. 195
 — *destructans* Potter als Zerstörer der Rüben. 353
 — —, Kultur. 353
 — *juglandis* Pierce bei Walnußfäule. 938
Paila rosae in Kanada. 699
Puccinia agropyri in Schweden. 731
 — *allii* bei Petersburg. 692
 — *alpestris* Syd. auf *Crepis alpestris*. 467
 — *Aschersoniana*. 468
 — auf *Phalaris*, Infektionsversuche. 695
 — *bromina* in Schweden. 731
 — *chrysanthemi*, Infektionsversuche. 659, 698
 — —, Bekämpfung. 698
 — *coronata* in Schweden. 731
 — *coronifera* in Schweden. 731
 — —, Vorkommen der Aecidien bei Petersburg. 692
 — *crepidicola* Syd. auf *Crepis*-Arten. 468
 — *crepidis*. 467
 — *crepidis acuminatae* Syd. auf *Crepis acuminata*. 468
 — — *aureae* Syd. auf *Crepis aurea*. 468
 — — *pygmaeae*. 468
 — *dispersa* in Schweden. 731
 — —, Infektionsversuche. 696
 — *glumarum*, Anatomie. 697
 — — in Schweden. 731
 — *graminis* bei Petersburg. 692
 — — in Schweden. 731
 — —, Infektionsversuche. 696
 — *holcina* in Schweden. 731
 — *Huteri* Syd. auf *Saxifraga mutata*. 467
 — *intybi*. 468
 — *lactucarum* Syd. 467
 — *libani* Magn. auf *Frangos asperula*. 764
 — *Magnusiana*, Infektionsversuche. 695
 — *major*. 468
 — *Mougeotii* in Tyrol. 467
 — *oblongata*, neue Nährpflanze. 467
 — *obtusata* nicht auf *Phalaris* vorkommend. 693
 — —, nicht identisch mit *P. phragmitis* und *Trailii*. 693

- Puccinia Passerinii*, neue Nährpflanze. 467
 — *Peckiana* in NewYork. 892
 — *phlei-pratensis* in Schweden. 731
 — *polygona*, Infektionsversuche. 696
 — *praecox*. 468
 — *Pringsheimiana*, Infektionsversuche. 695
 — *pruni*, verschiedene Rassen. 658
 — *ribesii-pseudocyperi*, Infektionsversuche. 695
 — *ribis-nigri-paniculatae*, Infektionsversuche. 695
 — *saniniensis* Magn. 764
 — *Scaliana* Syd. auf *Crepis bursifolia*. 468
 — *septentrionalis* in Tyrol. 467
 — *silvatica*. 468
 — *simplex* in Schweden. 731
 — —, Infektionsversuche. 696
 — *triseti* in Schweden. 731
 — *tritica* in Schweden. 731
 — —, Infektionsversuche. 696
 — *violae*, Infektion. 659
Pucciniastrum epilobii, Infektionsversuche. 693. 695

Radieschen, befallen von *Peronospora parasitica*. 731
Rahmsäureentwickler, Wirkung und Zusammensetzung. 153
Rajpilze, Unterschiede. 320
Ramularia betae Rostr. auf Runkelrüben. 470
 — *oenotherae biennis* Iwan. auf *Oenothera biennis*. 692
 — *trollii* Iwan. auf *Trollius europaeus*. 692
Ratten schädlich für Kakao. 915
Rebenveredelungsstationen in Preußen, Thätigkeit. 665
Reblaus, biologische Verhältnisse. 665
Reblausbekämpfung, Organisation. 664
Reblauskrankheit, Bekämpfung. 664
 — in Algier. 666
 — in Amerika. 668
 — in Australien. 668
 — in Bayern. 665
 — in Bulgarien. 668
 — in der Schweiz. 667
 — in der Türkei. 668
 — in Elsaß-Lothringen. 665
 — in Frankreich. 666
 — in Italien. 667
 — in Oesterreich. 667
 — in Preußen. 664
 — in Rumänien. 668
 — in Rußland. 668
 — in Sachsen. 665
 — in Serbien. 668
 — in Spanien. 666
 — in Württemberg. 665

Rhachomyces canariensis Thaxt. auf *Trechus flavomarginatus*. 520
 — *cayennensis* Thaxt. auf *Cryptobium*. 520
 — *cryptobianus* Thaxt. auf *Cryptobium capitatum*. 520
 — *philonthinus* Thaxt. auf *Philonthus*-Arten. 520
 — *stipitatus* Thaxt. auf *Anophthalmus*-Arten. 520
 — *tenuis* Thaxt. auf Carabiden. 520
 — *thalpii* Thaxt. auf *Thalpius rufulus*. 520
 — *velatus* Thaxt. auf *Colpodes* und *Gynandropus*. 520
 — *zuphii* Thaxt. auf *Zuphium mexicanum*. 520
Rhizoctonia auf Kartoffeln. 522
Rhizomyces crispatus Thaxt. auf *Diopsis*. 520

Rhizopus oryzae, Artberechtigung. 316
 — —, Beschreibung. 315
 — —, Morphologie. 313
 — —, Physiologie. 314
Robinia pseudacacia, Verhalten der Knöllchen im Wasser. 70
Roestelia auf Ebereschen bei Petersburg. 692

Rostpilze, Verhalten des Mycel in der Nährpflanze. 696
Rostsporen, Nachweis in der Luft. 696
Rotweine, Ursachen des Bitterwerdens. 289

Rüsselkäfer als Kakaoeschädling. 916

Saccharomyces anomalus, Proteolyse. 796
 — —, sporenlose Varietät. 201
 — *apiculatus*, Proteolyse. 796
 — *cerevisiae*, Gärung mit und ohne Sauerstoff. 310
 — —, Proteolyse. 799
 — — I, sporenlose Varietäten. 201
 — *ellipsoideus* I, Fehlen sporenloser Varietäten. 201
 — — —, Gärung mit und ohne Sauerstoff. 310
 — — Proteolyse. 797
 — — II, sporenlose Varietät. 201
 — *Ludwigii*, bisherige Kenntnisse. 846
 — —, Enzymbildung. 153
 — —, Fehlen sporenloser Varietäten. 201
 — —, Proteolyse. 797
 — —, Variation. 199
 — *Marxianus*, Enzymbildung. 153
 — —, Proteolyse. 796
 — —, Variation. 199
 — *membranifaciens*, Proteolyse. 796
 — —, Fehlen sporenloser Varietäten. 201
 — *Pasteurianus*, Proteolyse. 797
 — —, sporenlose Varietät. 200
Saccharose, Vergärung durch Hefen. 166. 215

- Salpeterzersehung im Boden, Ursache und Bedeutung. 71
- Sarcina bewegliche, Beeinflussung der Eigenbewegung. 211
- ventriculi, Bau der Kolonien. 394
- Sarcina-Arten, Bau der Kolonien. 394
- Sarcinastrum urosporae Lagh. in Urospora mirabilis. 248
- Setora nitens als Kakaoeschädling. 918
- Scenedesmus obliquus in der Elster. 398
- quadricauda in der Elster und Luppe. 398
- Schalschäden durch Wild, Folgekrankheiten. 555
- Schaumcikaden, Biologie. 812
- Schizosaccharomyces octosporus, Variation. 364
- pombe, Gärung mit und ohne Sauerstoff. 309
- —, Proteolyse. 796
- , Vergärung von Zuckerarten. 466
- Schleimfluß brauner an Apfelbäumchen. 658
- —, Vorkommen. 350
- weißer, der Eichen, Auftreten und tierische Besucher. 352
- Schüttelkrankheit der Kiefer. 440
- — —, angerichteter Schaden. 444
- — —, Bekämpfung. 442
- — —, Verhütungsmittel. 205
- Sclerotinia Bresadolae Rick auf Eichenknospen. 699
- cinerea, Entwicklung. 399
- fructigena, Entwicklung. 402
- Libertiana als Ursache der Salatkrankheit. 469
- trifoliorum in Dänemark. 470
- Scolytus in Nordamerika. 473
- Seidenraupe, neue Krankheit. 405
- Selbstreinigung der Flüsse. 75
- — —, Anteil der Pflanzen. 410
- — —, künstliche Versuche. 408
- Semasia nigricana in Kanada. 699
- Septoria apetalae Magn. auf Silene apetalae. 764
- castaneicola in Italien. 850
- cerasi bei Dürrfleckenkrankheit des Steinobstes. 655
- effusa bei Dürrfleckenkrankheit des Steinobstes. 655
- erythrostoma bei Dürrfleckenkrankheit des Steinobstes. 655
- Loeffgreni Noack auf Orangenbäumen. 470
- lycopersici in Italien. 850
- parasitica bei Petersburg. 692
- piricola in Italien. 850
- ribis in NewYork. 892
- Siphonophora avenae in Kanada. 699
- Solanin, Entstehung in den Kartoffeln durch Bakterien. 204
- Sorisporium Bornmuelleri Magn. 764
- Sorisporium pollinae Magn. 764
- Sphacelaria amphicarpa Sauv. auf Halidrys siliquosa. 522
- hystrix, Färbung mit Eau de Javelle. 522
- Sphacelariaceen parasitische, Einfluß auf die Wirtspflanze. 522
- Sphaerella fragariae bei Petersburg. 692
- Sphaeropsis malorum in NewYork. 892
- Sphaerotheca mors-uvae in NewYork. 892
- Sphaerotilus natans in der Elster und Luppe. 397
- Sphaerulina trifolii Rostr. auf Weißklee. 470
- Sphaleromyces atropurpureus Thaxt. auf Quedius-Arten. 520
- brachyderi Thaxt. auf Brachyderus autennatus. 520
- obtusus Thaxt. auf Lathrobium illyricum. 520
- propinquus Thaxt. auf Lathrobium. 520
- Spirillum rubrum, Bau der Kolonien. 394
- Spirochaete plicatilis in der Elster und Luppe. 398
- Sporen der Pilze, Verbreitung durch Wind. 445
- Sporenkeimung bei Pilzen, Bedingungen. 937
- Sporocycbe longicapitata Zimm. auf Kaffee. 145
- minuta Zimm. auf Kaffee. 145
- Sporodinia grandis, Bedingungen der Fruchtbildung. 811
- Spritzmittel gegen Peronospora und Oidium. 412
- Sproßpilze, regelmäßiges Vorkommen im Darmepithel von Anobium paviceum. 700
- Staphylococcus pyogenes aureus, Desinfektion mit Brom. 701
- — —, Verhalten im Milchthermophor. 641
- Stauropus alternus als Kakaoeschädling. 918
- Steinobst, Ursache der Sprüh- und Dürrfleckenkrankheit. 654
- Steirastoma depresso als Kakaoeschädling. 916
- Stickstoffassimilation durch Bakterien. 257
- — —, Litteratur. 885
- — —, zusammenfassende Uebersicht. 783, 833, 876
- Stickstoffaufnahme durch niedere Algen. 149
- Stickstoffverbindungen, Zersetzungen im Boden. 930
- Stickstoffzersetzung im Boden, Düngerversuche. 68

- Stigmonose der Nelken, Aphiden als Ursache. 300
Stilbum coffeae Zimm. auf Kaffee. 144
Streptococcus coli gracilis, Bau der Kolonien. 394
 — *hollandiae*, Degeneration. 363
 — *lanceolatus*, Bau der Kolonien. 394
 — *pyogenes*, Verhalten im Milchthermophor. 648
Surirella ovalis var. *minuta* in der Elster. 398
 — *splendida* in der Elster und Luppe. 398
Synedra actinastroides in der Elster. 398
 — *ulna* in der Elster und Luppe. 398
Synura ulvella in der Elster. 398
 Tabakblätter, Gehalt an Fermenten. 251
 Tabakfermentation. 673
 —, Nachweis von Oxydasen und Peroxydasen. 2
 —, Ursachen. 1
 Tabakpflanze, Säuregehalt der einzelnen Teile. 250
Tacniotes farinosus als Kakaoschädling. 917
 Tausendfüßler leuchtende, Ursache des Leuchtens. 270
Teratomyces philonthi Thaxt. auf *Philonthus*. 520
 — *vulgaris* Thaxt. auf *Quedius*-Arten. 519
 Tetanusbacillen, Bau der Kolonien. 394
Thecopsora padi, Infektionsversuche. 695. 696
Thiocystis violacea, Bau der Kolonien. 394
 Tieramöben hefefressende. 890
Tomicus als Kakaoschädling. 916
 — in Nordamerika. 473
Tortrix als Kakaoschädling. 919
Torrubiella luteorostrata Zimm. auf *Cocciden*. 872
Torula, Vergärung von Zuckerarten. 466
Trachyderes succinctus als Kakaoschädling. 917
Trametes theae Zimm. auf Thee. 101
 Transformation von Mikroben. 363
Trichacis remulus als Parasit der Hessefliege. 602
Trichosporium suberis Henriqu. auf Korkeiche. 732
Tuberculina, systematische Stellung. 444
 Tuberkelbacillen, Verhalten im Milchthermophor. 649
Tylenchus agrostidis, Vernichtung durch einen bakterienähnlichen Organismus. 249
 — *coffae*, Lebensfähigkeit und Wasser. 557
Typhus bacillen Beeinflussung der Eigenbewegung. 212
 —, Desinfektion mit Brom. 701
 Tyrol, Pilzflora. 467
Ucinula salicis, Haustorien. 468
 Unkraut in Gartenrasen, Bekämpfung. 662
 Urease zur Harnspaltung. 55
 Uredineen auf *Crepis*, Uebersicht. 467
 —, Beeinflussung des Generationswechsels durch die Meereshöhe. 849
Uredo ilicis in Algier. 732
 — *imperatae* Magn. auf *Imperata cylindrica*. 764
Urobacillus Leubei Beijer., Beschreibung. 51
 — *Miquelli* Beij., Beschreibung. 47
 — *Pasteurii*, Anhäufung. 41
 — —, Beschreibung. 44
Urococcus ureae, Anhäufung. 54
 — —, Geschichtliches. 35
Uromyces apiculatus bei Petersburg. 692
 — *caryophyllinus*, Bekämpfung. 660
 — —, neue Nährpflanzen. 467
Ustilago avenae bei Petersburg. 692
 — —, Sporenkeimung. 938
 — *ischaemi*, Zugehörigkeit zu *Cintractia*. 467
 — *Kolleri* in Norwegen. 470
 — *longissima* bei Petersburg. 692
 — —, Giftwirkung. 731
 — *nuda* bei Petersburg. 692
 — *perennans*, Sporenkeimung. 938
 Variation von Mikroben. 363
 Veilchen, Bekämpfung der Fleckenkrankheit. 609
Venturia inaequalis in New York. 892
 Vermehrungspilz, Vorkommen und Bekämpfung. 553
Vermicularia auf Kartoffeln. 522
Vibrio albensis, Bau der Kolonien. 394
 — *aquatilis*, Bau der Kolonien. 394
 — *Finkler-Prior*, Bau der Kolonien. 394
 — *Metschnikovii*, Beeinflussung der Eigenbewegung. 212
 Wasserpflanzen höhere, Entnahme des Stickstoffes aus organischen Quellen. 410
 Wasserreinigung, Prüfung des Schumburgschen Verfahrens. 701
 Wasserstoffsperoxyd zur Milchsterilisierung. 706
 Weinhefen, Vergärung von Zuckerarten. 466
 Weinkrankheiten, Uebersicht. 927
 Wurzelbrand der Rüben, Bekämpfung durch Düngemittel. 732

Wurzelknöllchen der Leguminosen, Arteinheit der Bakterien.	203	Zeuzera pirina in Italien.	851
— der Leguminosen, Bedingungen der Bildung.	204	Zoogloea ramigera in der Luppe.	398
— bei Leguminosen, Ursache ihrer Bildung.	203	Zucker, Bestimmung der Vergärbarkeit durch Hefen.	241
Ximenia americana, Parasitismus auf Chavica officinarum.	892	Zuckerarten, Gärversuche mit verschiedenen Hefen.	466
Xylariaceen auf Kakaostämmen.	922	Zymase aus getöteter Hefe.	247
Xyleborus perforans als Kakaoschädling.	916	— aus Unterhefe, Versuche.	845
Xylocrius Agassizii in Kanada.	700	—, Natur derselben.	436
		—, Verhalten gegen physikalische und chemische Agentien.	550
		—, Wirksamkeit und Gewinnung.	473

III. Verzeichnis der Abbildungen.

Azotobacter agilis Beij. (Taf.) Fig. 5. 6	582	Edamerkäse, Bakterien. (Taf.)	833
— chroococcum Beij. (Taf.) Fig 1—4	582	Graphium coffeae Zimm.	146
Bacillus carotarum (Taf.) Fig. VIII	730	Hefe chinesische, Körner. (Taf.) Fig. 1. 2.	338
F, G, Fig. XIII.	730	Helopeltis Antonii. Fig. III. IV.	920
— cohaerens. (Taf.) Fig. XII.	730	Hypochnus gardeniae Zimm.	102
— ellenbachensis. (Taf.) Fig. V.	730	Hypocrella Raciborskii Zimm.	875
— fusiformis. (Taf.) Fig. IV.	730	Kakaofrucht angestochen durch Helopeltis. Fig. I.	920
— graveolens. (Taf.) Fig. III, Fig. VIII	730	— mit Tineidengängen. Fig. I.	918
A—E.	730	Kakaotriebspitze durch Helopeltis angestochen. Fig. II.	920
— mycoides. (Taf.) Fig. VI.	730	Kartoffelpflanze geimpft mit Bacillus solanacearum. (Taf.) Fig. 37.	199
— petasites. (Taf.) Fig. VII.	730	Kurven für Pilzwachstum mit und ohne Zn und Cu.	423
— pumilus. (Taf.) Fig. X.	730	Milcheimer zum aseptischen Melken. (Taf.)	833
— ruminatus. (Taf.) Fig. I.	730	Milchthermophor, Kurve der Keimzahl.	642
— simplex. (Taf.) Fig. XI.	730	Molleriella sirih Zimm.	140
— solanacearum in Kartoffelpflanzen. (Taf.) Fig. 38—43.	199	Monilia sitophila. (Taf.)	598
— subtilis. (Taf.) Fig. IX.	730	Mucor cambodja Chrz. (Taf.) Fig. 3	338
— tracheiphilus in den Geweben von Cucumis sativus. (Taf.) Fig. 3—27.	198	—18.	326
— tumescens. (Taf.) Fig. II.	730	— dubius Wehm. (Taf.) Fig. 15—23.	326
Bacterium petroselinii. (Taf.) Fig. XIV	730	— Rouxii. (Taf.) Fig. 11.	325
Broomella ichnaspidis Zimm.	875	— —, Chlamydosporen.	913
Buprestidenlarve vom Kakao.	916	Myriangium Durieui.	876
Calonectria cremae Zimm.	140	Necator decretus.	146. 147
— meliae Zimm.	106	Nectria coccidophthora Zimm.	873
Chaetodiplodia coffeae Zimm.	143	— coffeicola Zimm.	104. 105
Chlamydomucor oryzae. (Taf.) Fig. 12—14.	326	— striatospora Zimm.	106
Colletotrichum incarnatum Zimm.	143.	Nematospira coryli Pegl. (Taf.)	761
	144.	Oidium Ludwigii. (Taf. u. Fig.)	231.
Corticium javanicum Zimm.	103	232. 236. 237. 275. 276.	349
Cosmopteryx spec. Fig. III.	918	Ophionectria coccicola Zimm.	874
Cucumis melo ungeimpft und geimpft mit Bacillus tracheiphilus. (Taf.) Fig. 1. 2.	198	Periconia coffeae Zimm.	144
Dauerhefe, gefärbte Präparate in verschiedenen Stadien der Gärung. (Taf.)	742	Phytophthora spec.	141. 142
		Planosarcina ureae Beij. (Taf.) Fig. 5. 6.	54. 60

<i>Protomyces theae</i> Zimm.	141	<i>Sporeocybr minuta</i> Zimm.	145
<i>Pseudomonas campestris</i> in den Geweben von Kohlpflanzen. (Taf.) Fig. 28—36.	199	<i>Stilbum coffeae</i> Zimm.	145
— <i>destructans</i> Fost.	357	Tineidenkokons auf einem Kakaoblatt. Fig. II.	918
— — in Rübenzellen.	356	Tineidenlarve. Fig. IV.	918
<i>Rhizopus nigricans</i> . (Taf.) Fig. 7.	325	<i>Trametes theae</i> Zimm.	101
— <i>Oryzae</i> . (Taf.) Fig. 1—6. 8—10.	325	<i>Urobacillus Leubei</i> Beij. (Taf.) Fig. 4.	51. 61
Rübenzellen mit Cytase behandelt.	287	— <i>Miquelii</i> Beij. (Taf.) Fig. 3.	50. 61
<i>Sporocybe longicapitata</i> Zimm.	146	— <i>Pasteurii</i> . (Taf.) Fig. 1. 2.	46. 60

IV. Neue Litteratur.

30. 77. 110. 158. 206. 252. 302. 365. 413. 446. 478. 525. 558. 606. 669. 702. 735.
765. 813. 854. 894. 941.

