

BOSTON MEDICAL LIBRARY.
IN THE
FRANCIS A. COUNTWAY
LIBRARY OF MEDICINE

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung. XVI. Band.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin,
Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck
in Delft, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Delbrück in Berlin, Dr. v. Freuden-
reich in Bern, Prof. Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in
Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädenswil, Prof. Dr. M. C.
Potter, Durham College of Science, New-castle-upon-Tyne, Prof.
Dr. Samuel C. Prescott in Boston, Prof. Dr. Erwin F. Smith in
Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr.,
Prof. Dr. Van Laer in Gand, Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof.
Dr. Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. Oscar Uhlworm in Berlin

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

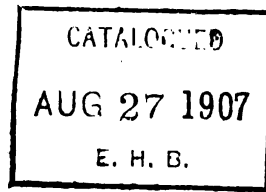
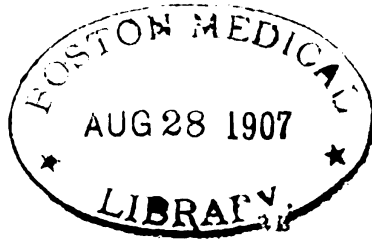
Zweite Abteilung. XVI. Band.

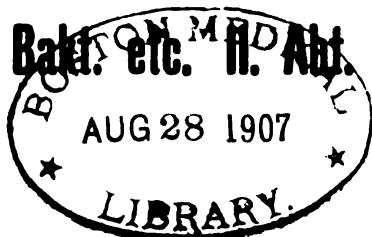
**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie
und Pflanzenpathologie.**

Mit 17 Tafeln und 39 Abbildungen im Texte.



J e n a,
Verlag von Gustav Fischer.
1906.





Nachdruck verboten.

La Sycochymase ou le Labferment du Ficus Carica.

Par R. Chodat et E. Rouge.

[Institut de Botanique, Université de Genève.]

Le Labferment du Ficus Carica était connu des anciens Grecs qui s'en servaient comme coagulant du lait pour la confection du fromage. C'est sans doute le plus anciennement signalé des ferments coagulants.

Dans l'île de Majorque, les paysans sont très friands de lait caillé. Pour préparer le caillot ils procèdent de la façon suivante. Ils font bouillir le lait et pendant qu'il est encore très chaud ils remuent le liquide au moyen de branches de figuier fendues en croix. Presqu' instantanément tout le lait se prend en une masse homogène qu'ils absorbent à la cuiller.

Cette constatation que le lait bouillant est rapidement coagulé nous a engagé à étudier de plus près ce curieux ferment. On sait, en effet, que le lait bouilli ne coagule plus que difficilement par la chymase ordinaire et que le lait stérilisé n'est plus caséifié par les méthodes habituelles.

On a d'ailleurs déjà quelques indications sur le ferment coagulant du figuier. Baginski¹⁾ a retiré des figes sèches, par l'eau distillée, un extrait qui agissait à 40°, sur le lait frais, au bout d'une heure; Peters²⁾, qui cite au long les auteurs de la Grèce antique, s'est inspiré d'eux; comme Baginski, cet observateur a retiré des figes sèches un ferment qui n'a aucune action sur le lait à la température de 15° et qui ne serait actif qu'à 45°; il agirait en réaction neutre; plus actif en doses massives, il perdrait son activité par l'ébullition; quoique moins actif sur le lait bouilli, il conserverait encore une action coagulante. Peters n'a pas poursuivi ses recherches sur le Labferment du figuier à cause des insuccès qu'il a rencontrés dans la préparation et la conservation du ferment.

Chodat et Lendner³⁾, dans une note préliminaire, insérée dans une monographie botanique sur l'île de Majorque, ont constaté que le lait bouilli et même le lait stérilisé coagulent aussi bien que le lait cru. Ils ont également remarqué, en se servant de branches de Ficus que cette coagulation se fait particulièrement bien aux températures élevées. Ils n'avaient pas isolé le ferment.

Néanmoins on pouvait se demander si cette action coagulante était due au même ferment qui caractérise l'estomac des jeunes veaux ou s'il s'agissait d'un nouveau ferment coagulant.

1) Baginski, Zeitschr. f. phys. Chemie. Bd. VII. 1882. p. 209.

2) Peters, Untersuch. über das Lab. [Dissert.] Rostock 1894.

3) Chodat (avec collaboration de A. Lendner), Une excursion botanique à Majorque. (Bullet. Soc. bot. Genève. 1905. p. 89—90.)

L'importance pratique d'une semblable étude est évidente. Isolé, ce ferment pourrait être utilisé pour la coagulation du lait bouilli ou stérilisé. Cette méthode serait applicable dans les pays où la loi interdit la vente du lait cru. On pourrait également additionner le lait stérilisé d'une certaine quantité de ce ferment pour en faciliter la coagulation dans l'estomac des nourrissons auxquels, ainsi que le démontrent les recherches récentes, ne convient point le lait stérilisé. Ce dernier produirait à la longue l'affaiblissement et le rachitisme.

En outre, il devenait intéressant d'établir les différences que cette coagulase présenterait vis à vis du Labferment ordinaire. Enfin, la question, encore discutée, de l'importance des sels de calcium sur la coagulation pourrait être reprise à propos de ce nouveau ferment auquel nous donnons le nom de *Sycochymase* ($\sigma\upsilon\chi\eta$ la figue).

Nos premières recherches ont porté sur le ferment inclus encore dans la plante; son action sur le lait cru et le lait stérilisé a tout d'abord été étudiée en fonction de la température.

Chemin faisant, nous avons réussi à trouver une bonne méthode d'extraction du ferment; nous avons pu également le conserver indéfiniment actif en solution saline.

Voici comment nous procédons :

Des extrémités de rameaux (20—25 cm à partir du sommet) sont coupés en petits disques au moyen d'un sécateur; ces morceaux sont placés pendant 24 h. à 48 h. dans une solution de chlorure de Sodium (7 %). Pour éviter la présence de bactéries on ajoute un peu d'essence de moutarde. Cet antiseptique déjà utilisé pour la conservation du Lab n'altère en aucune manière l'action du ferment.

L'extraction par l'eau, par l'eau glycinée, l'eau chloroformée, ne donne qu'une solution très peu active ou très instable; les branches de figuier broyées et séchées perdent leur action; la poudre fraîche traitée par l'acétone ne donne aucune action coagulante.

On peut en conclure que la sycochymase soluble est en très faible quantité dans les rameaux et que ce corps participe de la nature des globulines ou accompagne ces dernières.

Comme il a été dit plus haut, nous avons commencé par établir la loi d'action du ferment dans la plante fraîche.

A cet effet, nous avons disposé nos expériences comme suit: Dans un bain-marie, fonctionnant comme thermostat d'Ostwald, plonge un thermomètre; une éprouvette contenant le lait (5 c. c.) est maintenue à une température fixe; un autre thermomètre est placé dans cette éprouvette. Ce thermomètre peut fonctionner comme agitateur. Lorsque la température cherchée est atteinte, on fait tomber dans l'éprouvette une petite branche de figuier fendue en long. La température baisse, mais elle se relève presque aussitôt sous l'influence du bain-marie dont la température est maintenue constante.

Voici les résultats obtenus :

| Température | A. Vitesse de coagulation | |
|-------------|------------------------------|----------------|
| | Lait cru | Lait stérilisé |
| 20° | 11' 8" | |
| 25° | | rien après 20' |
| 26° | 3' 18" | |
| 30° | | 3' 25" |
| 32° | 1' 25" | |
| 35° | 48" | 1' 21" |
| 44° | | 45" |

| Température | Vitesse de coagulation | |
|-------------|------------------------|----------------|
| | Lait cru | Lait stérilisé |
| 40° | 41" | |
| 45° | 25" | |
| 50° | 20" | 24" |
| 55° | 15" | 21" |
| 60° | | 13" |
| 64° | 8" | |
| 70° | | 12" |
| 75° | 9" | |
| 80° | | 13" |
| 85° | 12" | 10" |

Dans cette expérience et dans celles qui vont suivre, on s'est toujours servi du même lait pour les essais comparatifs de manière à éviter les écarts individuels.

Comme on le voit, les deux courbes de vitesse en fonction de la température tendent à se confondre à partir de 50° c'est-à-dire à partir du moment où l'activation par élévation de la température est faible. Mais à des températures plus basses, la sensibilité du lait stérilisé est plus faible. En outre, à une température inférieure à 30°, le ferment dans la plante vivante, n'a plus d'action rapide.

Dans une seconde série le même rapport a été observé (sur un lait d'une autre provenance). Les deux courbes ne se confondaient qu'à partir de 60°.

B.

| Température | Vitesse de coagulation | |
|-------------|------------------------|--|
| | Lait stérilisé | |
| 30° | 9' | |
| 35° | 3' 6" | |
| 40° | 1' 45" | |
| 50° | 45" | |
| 60° | 30" | |
| 75° | 27" | |
| 85° | 23" | |
| 87° | — | |
| 90° | — | |

On voit que la sensibilité de ce lait est encore plus faible que dans l'exemple précédent.

Comparons maintenant les résultats obtenus avec ceux que fournit le ferment extrait comme cela a été indiqué plus haut.

Nous prenons 5 c. c. de lait maintenu à une température constante dans un bain-marie dans lequel plonge un thermomètre; un autre thermomètre introduit dans le lait sert à agiter ce dernier à partir du moment où l'on introduit la solution du ferment; lorsque la température est atteinte on verse la quantité du ferment (1 c. c.) au moyen d'une pipette. On note le moment du mélange et celui de la coagulation. Ce dernier point est d'une grande netteté. Après quelques essais préliminaires on arrive à le noter avec une grande sûreté.

C.

| Température | Vitesse de coagulation | |
|-------------|------------------------|----------------|
| | Lait cru | Lait stérilisé |
| 25° | 330' | 17' |
| 30° | — | 8' 25" |
| 35° | 140' | 4' 55" |
| 42° | — | 2' 30" |
| 43—44° | — | 2' 6" |
| 46—47° | — | 1' 35" |
| 50° | 6' 20" | 1' 10" |

1*

| Température | Vitesse de coagulation | |
|-------------|------------------------|----------------|
| | Lait cru | Lait stérilisé |
| 55° | 2' 10" | 50" |
| 60° | 1' 8" | 35" |
| 65° | 38" | 30" |
| 70° | 24" | 23" |
| 73° | — | 16" |
| 75° | 17" | — |
| 78° | 15" | 13" |
| 80° | 14" | — |
| 81° | — | 14" |
| 83° | 15" | — |
| 84° | 13" | — |
| 85° | — | — |
| 86° | — | — |

On remarque d'abord que la vitesse de coagulation qui, aux basses températures, pour le ferment in situ, était plus grande, en ce qui concerne le lait cru, est ici renversée; aux températures situées au dessous de 70° l'action de la sycochymase extraite est beaucoup plus grande sur le lait stérilisé. Au-dessus de 70° les deux laits sont sensiblement coagulés aux mêmes températures. Il est à peine besoin de remarquer que les deux séries sont parfaitement comparables, les expériences ayant porté sur le même lait.

Il convient maintenant d'étudier l'altération du ferment par le chauffage. A 5 c.c. de lait maintenu à la température de 70° on ajoute 1 c.c. de la solution du ferment préalablement porté pendant un temps donné à une température nocive.

D.

Lait cru.

| | | | | | | | |
|-----|------------------------|---------------|---------|------|-----|------|--------------|
| 65° | Temps de chauffage | 5' 10' | 15' 20' | | | | |
| | Vitesse de coagulation | 25" | 73" | 115" | 8' | | |
| 70° | Temps de chauffage | 0 | 0 | 45" | 1' | 2' | 3' 5' |
| | Vitesse de coagulation | 24" | 25" | 49" | 75" | 122" | 155" 8' rien |
| 75° | Temps de chauffage | 1' | 1' | | | | |
| | Vitesse de coagulation | rien après 8' | | | | | |

E.

Lait stérilisé.

| | | | | | | |
|-----|------------------------|-------------------------------|--------|--------|--------|--------|
| 70° | Temps de chauffage | 0' | 0' | 1' | 5' | 10' |
| | Vitesse de coagulation | 23" | 23" | 30" | 1' | 1' 10" |
| 75° | Temps de chauffage | 1' | 2' | 5' | 10' | |
| | Vitesse de coagulation | 1' 32" | 1' 37" | 1' 55" | 5' 25" | |
| 80° | Temps de chauffage | 1' | | | | |
| | Vitesse de coagulation | 6' 12" (mauvaise coagulation) | | | | |
| 85° | Temps de chauffage | 1' | | | | |
| | Vitesse de coagulation | rien après 10' | | | | |

Il est très intéressant de constater que la chaleur altère le ferment, non seulement en diminuant sa masse active, mais aussi en le modifiant. En effet, il reste plus longtemps actif vis à vis du lait stérilisé que vis à vis du lait cru. Deux explications sont possibles: ou bien, il y a dans la solution plusieurs chymases dont l'une plus active vis à vis du lait stérilisé résiste mieux à l'action nocive de la chaleur, ou bien, la chaleur produit une modification inactive ou peu active vis à vis du lait cru mais encore active vis à vis du lait stérilisé¹⁾.

1) Il est intéressant de constater que Bang a réussi à distinguer dans le Lab animal deux ferments dont l'un plus résistant à l'action de la chaleur a été appelé Parachymase (Pflüg. Arch. Bd. 79. 1899. p. 425).

Influence de la masse du ferment.

On opère de la même manière que précédemment, mais on fait varier la masse du ferment tandis que la température est maintenue constante.

F.

| Température 70°. | Masse du ferment | Vitesse de coagulation | |
|------------------|------------------|------------------------|----------------|
| | | Lait cru | Lait stérilisé |
| | 0,1 c. c. | 6' rien | 2' |
| | 0,2 " | 1' 50" | 50" |
| | 0,3 " | 45" | 37" |
| | 0,4 " | 35" | 34" |
| | 0,5 " | 32" | 29" |
| | 0,6 " | 28" | 24" |
| | 0,7 " | 27" | 23" |
| | 0,8 " | 27" | 24" |
| | 0,9 " | 26" | 24" |
| | 1,0 " | 25" | 24" |

Ces deux séries ont été obtenues à partir du même lait et dans les mêmes conditions. On ajoutait au lait le volume d'eau nécessaire pour amener le volume à 6 c. c.

Il est évident, à première lecture, que le lait stérilisé est plus rapidement coagulé par des doses faibles de ferment que le lait cru; à des concentrations plus fortes les deux vitesses tendent à se rapprocher.

La loi de Segelke-Storch dit que le produit de la masse du ferment par la vitesse, est une constante. Ceci, en ce qui concerne la chymase.

Dans le cas de la Sycochymase ces produits sont:

On le verra, il n'y a pas à proprement parler de constante. Aux concentrations moyennes les produits de la masse et des vitesses se rapprochent d'une constante mais aux faibles et aux fortes concentrations cette valeur s'écarte rapidement de la moyenne.

G.

| | | 70°. Lait stérilisé. | | | | | | | | | |
|----------|----|------------------------|------|-------|-----|-----|-----|------|------|-----|-------|
| Masses | | 0,1 | 0,2 | 0,3 | 0,4 | 0,5 | 0,6 | 0,7 | 0,8 | 0,9 | 1,0 |
| Vitesses | | 120" | 50" | 37" | 34" | 29" | 24" | 23" | 24" | 24" | 24" |
| Produit | | 120 | 100 | 111 | 136 | 145 | 144 | 161 | 192 | 216 | |
| | | 70°. Lait stérilisé. | | | | | | | | | |
| Masses | | 0,2 | 0,3 | 0,4 | 0,5 | 0,6 | 0,7 | 0,8 | 0,9 | 1,0 | |
| Vitesses | | 200" | 72" | 50" | 37" | 33" | 32" | 30" | 29" | 28" | |
| Produit | | 400 | 216 | 200 | 185 | 198 | 224 | 240 | | | |
| | | 67°. - Lait cru. | | | | | | | | | |
| Masses | | 0,1 | 0,2 | 0,3 | 0,4 | 0,5 | 0,6 | 0,7 | 0,8 | 0,9 | 1,0 |
| Vitesses | | 110" | 80" | 44" | 35" | 33" | 27" | 23" | | 22" | 22" |
| Produit | | 110 | 140 | 132 | 140 | 165 | 162 | 161 | | 198 | |
| | | 65°. Lait cru. | | | | | | | | | |
| Masses | | 0,1 | 0,2 | 0,3 | 0,4 | 0,5 | 0,6 | 0,7 | 0,8 | 0,9 | 1,0 |
| Vitesses | | 300" | 104" | 58" | 41" | 33" | 27" | 26,5 | 26,5 | | 25,5" |
| Produit | | 30 | 208 | 174 | 164 | 165 | 162 | 185 | | | |
| | | 70°. Laits stérilisés. | | | | | | | | | |
| Masses | | 0,1 | 0,2 | 0,3 | 0,4 | 0,5 | 0,6 | 0,7 | 0,8 | 0,9 | 1,0 |
| Vitesses | a. | 120" | 50" | 37" | 34" | 29" | 24" | 23" | 24" | 24" | 24" |
| | b. | 112" | 52" | 36" | 33" | 30" | 24" | 24" | 23" | 24" | 23" |
| Produit | | 116 | 102 | 109,5 | 134 | 147 | 144 | 164 | | | |

Si maintenant nous établissons la moyenne de l'observation précédente nous aurons

| | | | | | | | | | | |
|----------------|------|-----|-------|-------|-------|-----|-------|-------|-----|-------|
| | 0,1 | 0,2 | 0,3 | 0,4 | 0,5 | 0,6 | 0,7 | 0,8 | 0,9 | 1,0 |
| Lait cru | | 85" | 48" | 37" | 32" | 27" | 25,5" | 25" | 24" | 23" |
| Lait stérilisé | 116" | 51" | 36,5" | 33,5" | 29,5" | 24" | 23,5" | 23,5" | 24" | 23,5" |

Cet ensemble de chiffres montre clairement que la loi d'action de ce ferment est différente de celle décrite pour la chymase. En outre, on constate qu'aux faibles concentrations ce ferment est plus actif sur le lait stérilisé que sur le lait cru. On conçoit dès lors, que le maximum de vitesse soit plus vite atteint en ce qui concerne le lait stérilisé qu'en ce qui regarde le lait cru (0,6 et 0,7).

Le maximum de vitesse atteint, toute nouvelle addition de ferment est sans action ni positive ni négative.

Une question souvent débattue est celle de l'influence des sels de chaux sur le phénomène de la coagulation. Actuellement tous les auteurs acceptent la théorie Hammarsten-Arthus. Cette théorie revient à prétendre que l'action de la présure consiste exclusivement dans la transformation de la caséine du lait en paracaséine, la coagulation proprement dite serait due à l'intervention des sels de chaux sur la paracaséine.

Cependant les idées modernes sur l'état colloïdal et les fausses solutions laissent entrevoir que la coagulation puisse avoir pour cause plus d'une action; en effet, on admet généralement, que les colloïdes, particules ultramicroscopiques en suspension dans l'eau sont porteurs de charges électriques et que l'action du coagulant est essentiellement d'opérer la décharge et de permettre ainsi l'agglutination des particules qui précédemment se repoussaient mutuellement. Ces idées sont vérifiées par le fait que plus d'une substance peut fonctionner comme coagulant et que celles qui se comportent ainsi vis à vis d'une fausse solution sont porteurs de charges électriques de même signe et de signe contraire à celles accumulées par les particules en suspension.

Pour démontrer l'importance des sels de calcium sur le phénomène de la coagulation de la caséine on a eu recours aux raisonnements suivants:

1) Un lait oxalaté, donc débarrassé de sels de calcium, ne coagule plus par l'addition de présure [Arthus et Pagès¹⁾].

2) Le lait bouilli coagule difficilement ou ne coagule plus; le lait stérilisé ne coagule plus [Oppenheimer²⁾]; ce dernier coagule de nouveau si on le sature d'anhydride carbonique [Schaffer³⁾, Chodat et Bang⁴⁾].

Or nous avons montré qu'on peut au moyen de la sycochymase coaguler un lait stérilisé (à 110° pendant 10 minutes ou même stérilisé jusqu'à ce qu'il commence à se caraméliser).

Le lait bouilli additionné de sycochymase coagule parfaitement. Le lait oxalaté par l'oxalate de potassium d'après la méthode d'Arthus et Pagès traité par notre ferment débarrassé des sels de chaux par l'oxalate neutre de potassium coagule également bien.

Ces premières recherches nous ont engagé à poursuivre cette question d'une manière méthodique. On sait que Duclaux n'admettait pas comme convaincantes les expériences d'Arthus et Pagès.

» Tout excès d'oxalate (et il en faut un excès d'après Arthus) a

1) Arthus et Pagès, Arch. de Phys. (5), II. 540 (1890).

2) Oppenheimer, Fermente I. Ed. 149. II Ed.

3) Schaffer, d'après v. Freudreich.

4) Chodat et Bang, Les bactéries lactiques et leur importance dans la maturation du fromage. (Annales de l'Institut Pasteur. 1901. XV.)

un effet retardateur sur l'action de la présure. Un lait oxalaté n'est pas seulement du lait décalcifié c'est une voiture à l'arrière de laquelle on a attaché un cheval pour l'empêcher d'avancer.*

Nous avons oxalaté du lait en l'additionnant tout d'abord de 1 ‰ d'oxalate neutre de potassium. Nous avons alors reconnu que ce lait, qu'on laissait en contact avec le réactif pendant un temps prolongé, coagulait avec des doses massives de présure. Il nous a fallu par conséquent augmenter la dose d'oxalate et la pousser à 2 ‰; alors la présure n'a plus d'action.

Voyons maintenant l'influence de l'oxalate sur le lait cru et sur le lait stérilisé.

H.

| | Lait naturel | | Lait oxalaté | | | |
|-----|--------------|-----------|--------------|-----------|-----|-----------|
| | cru | stérilisé | 1 ‰ | | 2 ‰ | |
| | | | cru | stérilisé | cru | stérilisé |
| 35° | 140' | 4' 55" | — | 6' 45" | — | 9' 55" |
| 40° | — | 2' 30" | — | 4' 15" | — | 5' 12" |
| 50° | 6' 20" | 1' 10" | 14' | 1' 40" | — | 2' 30" |
| 55° | 2' 10" | 50" | 3' 35" | 1' 13" | 8' | 1' 30" |
| 60° | 1' 8" | 35" | 1' 20" | 47" | 58" | 1' 6" |
| 70° | 24" | 23" | 24" | 25" | 30" | 38" |
| 75° | 17" | 15" | 18" | 24" | 23" | 36" |

Ces chiffres montrent clairement que l'oxalate a un effet retardateur marqué et que le retard progresse à mesure que la dose d'oxalate s'élève. D'après Arthus un lait additionné de 1 ‰ d'oxalate est décalcifié. Une analyse seule pourrait décider de ce point. Il est à peine besoin de citer que le ferment a été lui-même débarrassé de la chaux par le même traitement. Par tâtonnement on avait déterminé quelle dose d'oxalate était nécessaire pour l'élimination complète de la chaux. On s'était donc arrangé de manière à ne guère dépasser la dose. Nous ajouterons que le ferment bouilli oxalaté ou non n'a plus d'effet coagulant.

Si maintenant nous comparons les laits stérilisés nous trouvons une remarquable relation. Si on exprime le temps de coagulation du lait oxalaté à 2 ‰ par 4 v. le temps de coagulation du lait oxalaté à 1 ‰ sera 3 v. et celui du lait non oxalaté par 2 v.

En calculant les vitesses à partir des temps observés pour le lait oxalaté à 2 ‰ nous trouvons en appliquant cette formule.

L.

| Laits stérilisés | | | | | |
|------------------|---------|-------------|---------|-------------|--|
| non oxalaté | | oxalaté 1 ‰ | | oxalaté 2 ‰ | |
| observ. | calcul. | observ. | calcul. | observ. | |
| 4' 55" | 4' 75" | 6' 45" | 6' 44" | 9' 55" | |
| 2' 30" | 2' 36" | 4' 15" | 4' | 5' 13" | |
| 1' 10" | 1' 15" | 1' 40" | 1' 54" | 2' 30" | |
| 50" | 45" | 67" | 73" | 1' 30" | |
| 35" | 33" | 45" | 40" | 1' 6" | |
| 23" | 19" | 25" | 28" | 36" | |

On voit que la concordance est satisfaisante, ce qui permet de dire que l'effet retardateur de l'oxalate augmente de la même manière aux différentes températures.

On pourrait objecter à ces résultats qui semblent parler en faveur de l'idée que les sels de calcium n'ont qu'une action secondaire sur le phénomène de la coagulation de la caséine, qu'il n'est pas certain que dans le lait oxalaté il ne reste, sous une forme combinée organique du calcium, dont la présence suffirait pour provoquer la coagulation.

Pour étudier la valeur de cette objection nous nous sommes servis

de lait artificiel préparé comme suit: On dissout à saturation de la caséine dans une solution à 1 ‰ de Soude caustique pure; on neutralise exactement avec de l'acide phosphorique. Cette solution nous a servi pour nos expériences. On avait préalablement calciné une quantité suffisante de caséine pour déterminer si cette caséine purifiée contenait de la chaux; les cendres n'ont pas fourni les réactions de la chaux. Le ferment était décalcifié. Ce ferment stérilisé ne provoquait pas de coagulation dans le lait artificiel.

| | K. | | |
|----|-----------------|-------------------------|-----------------|
| | Lait artificiel | Lait artif. oxalaté 1 ‰ | |
| | Ferment | Ferment oxalaté | Ferment oxalaté |
| 40 | 3' 31" | 4' 36" | 5' |
| 45 | 2' 25" | 3' 5" | 3' 26" |
| 50 | 1' 32" | 1' 52" | 2' 10" |
| 55 | 62" | 1' 25" | 1' 42" |
| 60 | 42" | 1' 5" | 1' 18" |
| 68 | 26" | 38" | 45" |
| 75 | 18" | 30" | 36" |
| 80 | 18" | 30" | 35" |

On voit ici également l'effet de l'oxalate sur la vitesse de coagulation; les courbes de vitesses sont sensiblement parallèles. On voit en outre que le calcium n'est pas nécessaire à la coagulation. Le coagulum obtenu n'est pas, il est vrai, de la nature de celui, qu'on obtient à partir du lait naturel. Ce n'est pas non plus un coagulum flocconeux mais bien un caseum assez compact et même poisseux.

Il résulte de cet ensemble de recherches que le ferment que nous avons extrait du Ficus Carica diffère en ce sens du ferment *in vivo* qu'il est plus actif sur le lait stérilisé aux basses températures que vis à vis du lait cru. Les branches du figuier, au contraire, agissent mieux sur le lait cru à ces températures et en outre, font coaguler le lait naturel à la température de 20° à laquelle le ferment extrait n'agit pas même sur le lait stérilisé. On en conclut que dans le Ficus il existe à côté de la sycochymase un second ferment ou une modification de ce ferment, ou un catalysateur secondaire qui permet l'action aux basses températures. Il faudra tenir compte de ce fait quand, dans un autre travail, on étudiera la fonction du ferment coagulant dans la plante.

La sycochymase se laisse décomposer en deux parties par l'atténuation par la chaleur; la première détruite est la portion qui est plus active vis à vis du lait cru, l'autre qui résiste à la température de 75°, inactive vis à vis du colloïde, tel qu'il est dans le lait cru, est encore très active vis à vis du colloïde tel qu'il est dans le lait stérilisé.

La sycochymase est peu active aux températures qui conviennent le mieux à la chymase tirée de l'estomac des jeunes veaux.

Son optimum est beaucoup plus élevé, il semble coïncider avec la température voisine de celle qui est mortelle (75—80°).

Il coagule aussi bien si ce n'est mieux le lait bouilli et le lait stérilisé que le lait cru.

Nous avons pu montrer que les sels de calcium ne sont pas nécessaires à la coagulation; peut-être sont ils des accélérateurs de cette réaction qui se fait parfaitement sans eux.

Les oxalates sont des paralysants de cette réaction; leur effet retardateur croît régulièrement avec leur concentration et ceci d'une manière semblable pour toutes les températures utiles.

La loi de Segelke-Storch qui dit que le produit de la vitesse

de coagulation par la masse du ferment est une constante, n'exprime que d'une manière très peu approchée l'action de la sycochymase et si on ne tient pas compte des écarts sensibles ne serait vraie que pour les concentrations moyennes.

Il n'est donc pas exact¹⁾ de dire avec Peters:

„In der Wirkung dem tierischen Lab in jeder Beziehung gleich sind die Labfermente des Pflanzenreiches, insbesondere durch ihr vollständig gleiches Verhalten auch bei Gegenwart fremder Substanzen, sowie durch die Möglichkeit, daß sie jederzeit mit derselben Wirkung an Stelle des Lab verwandt werden können.“

Il y a sans doute plus d'une analogie, mais aussi des différences essentielles qui ne sauraient être tenues pour indifférentes. Elles justifient le néologisme de sycochymase proposé par nous et qui vient se placer à coté de chymase et de parachymase.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Myxobakterien.

Von Alfred Quehl.

Mit 1 Tafel und 3 Figuren.

Anfang der neunziger Jahre beschrieb Roland Thaxter²⁾ eine Reihe von Organismen, die er wegen ihres höchst überraschenden Entwicklungsganges, den er an Reinkulturen genau studiert hatte, unter dem Namen der „Myxobakterien“ als eine besondere, hoch entwickelte Familie der Schizomyceten zusammenfaßte. In zwei weiteren Arbeiten aus den Jahren 1897³⁾ und 1904⁴⁾ fügte er den schon beschriebenen Arten, die er in drei Gattungen eingeordnet hatte, eine größere Anzahl von neuen Species hinzu und berichtete eingehender über verschiedene Einzelheiten der Entwicklungsgeschichte.

Später stellte es sich dann heraus, daß einzelne Myxobakterien schon von anderen Forschern gefunden worden waren. So hatte Link⁵⁾ im Jahre 1795 *Polyangium vitellinum* als Gasteromyceten beschrieben, Berkeley⁶⁾ und Curtis hatten schon *Chondromyces aurantiacus* und *crocatus* für Hyphomyceten gehalten. Bonorden⁷⁾ hingegen hatte erklärt, das, was Link als Gasteromyceten beschrieben habe, seien in Wirklichkeit Insekteneier! Andere sprachen einzelne Myxobakterien als Myxomyceten an. Erst Schröter⁸⁾ erkannte die Bakteriennatur dieser Organismen; er beschrieb zwei Species von ihnen. Da er aber ihre Entwicklungsgeschichte nicht weiter untersuchte, so blieb es Thaxter vorbehalten, die Lebensgeschichte der Myxobakterien und ihre besondere Stellung im System zu erkennen.

1) Ce qui ressort aussi du travail du Morgenroth, Ueber die Antikörper des Labenzymes, (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXVI. p. 349 et Bd. XXVII. p. 721.)

2) Thaxter, On the Myxobacteriaceae, a new order of Schizomycetes. (Botanical Gazette. 1892. p. 389 ff.)

3) Thaxter, Further observations on the Myxobacteriaceae. (Botan. Gaz. 1897. p. 395 ff.)

4) Notes on the Myxobacteriaceae. (Botan. Gaz. 1904. p. 405 ff.)

5) Link, Dissertationes botanicae. 1795.

6) Berkeley, Introduct. to Cryptogam. Botany. London 1857.

7) Bonorden, Handbuch der allgemeinen Mykologie. 1851.

8) Schröter, Kryptogamenflora von Schlesien. Bd. III. 1889. p. 170.

In Europa hatten die Mitteilungen Thaxters wenig Beachtung gefunden. So konnte es geschehen, daß Zukal¹⁾ den schon Berkeley bekannten und von Thaxter genau untersuchten *Chondromyces crocatus* im Jahre 1896 als einen neuen Myxomyceten beschrieb. Wie wenig bekannt auch in neuester Zeit noch die Myxobakterien in Europa waren, zeigt ferner eine Arbeit von Zederbauer²⁾, in welcher dieser, ohne die von Thaxter u. A. gefundenen und genau untersuchten Formen zu kennen, die Ansicht vertrat, diese Organismen stellten eine Symbiose zwischen Fadenpilzen und Bakterien dar! Das, was Zederbauer für Myxobakterien gehalten hatte, waren aber nach einer Mitteilung Thaxters³⁾, dem der Verf. einige Proben seiner Organismen zugesandt hatte, die Konidienformen von *Coryne sarcoides* (Jacq.) Tul. und "a dried up mouldy plasmodium, blackened by the abundant fructifications of a toruloid hyphomycete", das mit Myxobakterien nicht das geringste zu tun hatte.

Durch Zederbauers überraschende Angaben über die Natur der Myxobakterien veranlaßt, untersuchte dann ebenfalls im Jahre 1904 E. Baur⁴⁾ die Entwicklungsgeschichte einiger wirklicher Myxobakterien, die, wie er fand, auch in Europa allgemein verbreitete Organismen sind. Er verfolgte an Reinkulturen am lebenden Objekt den lückenlosen Entwicklungsgang eines *Myxococcus* und eines *Polyangium* und untersuchte eingehender die Physiologie und Biologie dieser Organismen.

Erwähnt sei dann schließlich bei dieser Besprechung der Literatur noch die Beschreibung eines *Myxococcus*, den A. L. Smith⁵⁾ in England gefunden hatte.

Es war somit außer den Arbeiten von Zukal und Baur und den kurzen Angaben von Schröter und A. L. Smith nichts über das Vorkommen von Myxobakterien in Europa bekannt. Ich machte es mir daher zur Aufgabe, insbesondere einmal über das Vorkommen und die Verbreitung dieser selbst in bakteriologischen Handbüchern wie Migulas System ferner u. a. in Engler-Prantls Pflanzenfamilien etc. gar nicht behandelten Bakterienfamilie genauere Untersuchungen auszuführen. Dabei stellte es sich denn heraus, daß der häufig vorkommende *Myxococcus rubescens* Th., wie schon Thaxter selbst vermutet hatte, nicht als eine einzige homogene Species aufzufassen sei, sondern daß wir es hier mit einer größeren Anzahl von nahe verwandten, aber in ihrer Verschiedenheit konstanten Sippen zu tun haben. Ihm wurde daher eine genauere Betrachtung gewidmet. Ferner habe ich einige Einzelheiten der Entwicklungsgeschichte, in Bezug auf welche zwischen den Resultaten Thaxters und Baur ein Widerspruch bestand, einer Nachprüfung unterzogen und einige durch Nährböden und Temperatur hervorgebrachte formative Beeinflussungen sowie die bei zahlreichen Myxobakterien auftretende Bildung eines Cystophors näher untersucht.

1) Zukal, *Myxobotrys variabilis* als Repräsentant einer neuen Myxomyceten-gattung. (Ber. d. dtsh. bot. Ges. Bd. XIV. 1896. p. 340 ff.) — Zukal, Ebenda. 1897. p. 17 f. und 542 ff.

2) Zederbauer, Sitzungsber. der k. k. Akademie der Wiss. zu Wien. Math.-nat. Klasse. Bd. CXII. 1903.

3) Thaxter, 1904. l. c.

4) Baur, E., Myxobakterienstudien. (Archiv f. Protistenkunde. Bd. V. 1904. p. 92 ff.)

5) Smith, A. L., Journal of botany. 1901.

Die Entwicklung der Myxobakterien ist wohl nur wenigen bekannt. Ich will daher zuerst eine kurze Beschreibung des Lebenslaufes dieser Organismen geben.

Nach Thaxters Vorgang unterscheiden wir in der Entwicklung der Myxobakterien zwei Perioden, eine des vegetativen Wachstums und eine der Pseudofruktifikation.

Die erste Periode zeigt einen Schwarm von Bakterienstäbchen, die sich durch Teilung vermehren, langsame, kriechende Bewegungen ausführen und während ihres Wachstums einen farblosen Schleim ausscheiden, in welchem sie leben, und welcher den Zusammenhalt des Schwarms bedingt. Nachdem dieses Pseudoplasmodium längere Zeit vegetativ gewachsen ist und sich über das Substrat ausgebreitet hat, beginnen die Stäbchen als Anfang der Pseudofruktifikation an gewisse Stellen zu kriechen und sich dort anzuhäufen. Der weitere Verlauf ist dann bei den einzelnen Gattungen etwas verschieden.

Bei der Gattung *Myxococcus* wandeln sich die vegetativen Stäbchen an den Stellen, an welchen sie sich angehäuft haben, durch allmähliche Verkürzung in kugelige Sporen um, welche dann, z. B. bei *Myxococcus rubescens*, bis 1 mm große, kugelige, lebhaft rot gefärbte Sporenhäufchen bilden. Beim Eintrocknen schrumpfen diese Fruchtkörper etwas, ferner insbesondere auch der Schleim, auf welchem sie sitzen, so daß schließlich die Sporenhäufen lose dem Substrat aufliegen, infolgedessen z. B. vom Winde leicht verbreitet werden können.

Bei den Gattungen *Chondromyces* und *Polyangium* dagegen werden die Stäbchen, die sich zur Fruchtkörperbildung anschicken, nur kürzer und dicker, aber nicht kugelig. Dagegen zeigen die Fruchtkörper dieser Gattungen eine viel höhere Entwicklung, als wir sie bei *Myxococcus* fanden. Gemeinsam ist den beiden ersteren Gattungen, daß sich eine Anzahl von verkürzten Bakterienstäbchen mit einer gemeinsamen, festeren Membran umgibt, zu einer „Cyste“ wird. Diese Cysten werden an den verschiedenen Stellen des Schwarmes, an welchen sich die Bakterien angehäuft hatten, einfach als kleine Häufchen angelegt oder sie bilden sich in Ein- oder Mehrzahl an mehr oder weniger langen Stielen oder „Cystophoren“. Im Zustande der Reife liegen dann die Cysten frei auf dem Substrat, oder sie lösen sich leicht von dem Stiel ab, so daß sie ebenfalls leicht vom Winde fortgetragen werden können. Gelangen dann die Sporenhäufchen oder Cysten wieder in günstige Verhältnisse, so keimen die Sporen bzw. die Membran der Cysten platzt, die eingeschlossnen Stäbchen treten heraus, wachsen auf die normale Länge heran, vermehren sich durch Querteilung und bilden wieder den Schwarm, von dem wir ausgegangen waren.

Vorkommen und Verbreitung der Myxobakterien in der Umgebung von Berlin.

Thaxter, welcher im Laufe von 15 Jahren eine größere Anzahl von Myxobakterien aus allen Gegenden der Welt beschrieben hat, hat die meisten Formen auf Mist von verschiedenen Tieren gefunden. Er gibt für die einzelnen Species als Fundorte an: Mist von Hunden, Hasen, Schafen, Schweinen, Antilopen, Pferden, Kühen, ferner Kaninchen, Bisamratten, Birkhuhn etc. Nur einige wenige hat er auf verfaulenden Flechten, altem Holz etc. angetroffen. Nach den Beobachtungen, die ich während längerer Zeit bei der systematischen Durchforschung der

Umgegend von Berlin nach Myxobakterien gemacht habe, kann ich diese Angaben nur durchaus bestätigen. Auch mir sind weitaus die meisten Formen auf altem Mist gekommen. Als ein ganz besonders ergiebiger Fundort erwies sich mir Kaninchenmist, welcher in der Berliner Umgebung fast überall in großer Menge vorhanden ist. Auf Mist von Füchsen habe ich nur *M. virescens*, auf Damwildmist auch nur relativ selten die häufigsten Myxokokken und *Polyangium fuscum* gefunden. Ebenso wenig ergiebig zeigten sich Pferde- und Kuhmist. Trotz mehrfacher Versuche ist es mir auch nicht geglückt, auf Flechten, die ich eingesammelt hatte, Myxobakterien zu bekommen. Diese scheinen, wie gesagt, bei uns ganz besonders den Kaninchenmist als Substrat zu bevorzugen. In Laboratoriumskulturen dagegen habe ich häufig gesehen, daß die Myxobakterien auch auf anderen Mist, auf verfallende Flechten etc. hinüberwuchsen, auf welchem sie sich zumeist auch gut weiterkultivieren ließen. Sie sind also nicht an ein bestimmtes Substrat gebunden. Eine Ausnahme davon macht, soweit wir bis jetzt sehen, nur *Polyangium vitellinum*, das ausschließlich auf faulendem Holz an ganz nassen Stellen, in Mooren, an Seeufern etc. zu finden ist. Schon Link, der die Species 1795 zuerst beschrieb, gibt einen solchen Fundort an, ebenso sämtliche späteren Beobachter. Die Form unterscheidet sich übrigens von fast sämtlichen anderen Myxobakterien auch dadurch, daß es bisher nicht gelungen ist, sie auf künstlichen Nährböden zu kultivieren.

Zur Untersuchung auf das Vorkommen von Myxobakterien wurden die einzelnen Brocken des eingesammelten Mistes zuerst kräftig durchgeschüttelt, um vielleicht vorhandene Cysten an möglichst verschiedene Stellen zu verbreiten und so deren Entwicklung zu befördern. Dann wurde der Mist in flachen Schalen, deren Boden mit Fließpapier bedeckt war, ausgebreitet und mit Wasser stark angefeuchtet. Wenn er nun in dieser Weise bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurde, so zeigte sich binnen kurzem ein außerordentlich lebhaftes Wachstum von anderen nicht erwünschten Organismen, insbesondere von *Mucor*, *Pilobolus*, *Penicillium*, Mycelien von Basidiomyceten, Plasmodien von Myxomyceten etc., so daß etwa sich entwickelnde Myxobakterien kaum zu beobachten waren. Da das Temperaturoptimum der Myxobakterien nun erheblich höher als Zimmertemperatur, etwa bei 35° liegt, so stellte Baur bei seinen Untersuchungen den Mist in einen Thermostaten mit einer Temperatur von 30°. Die Myxobakterien breiteten sich dann in derselben Zeit viel weiter aus, während die meisten anderen Organismen, die vorher alles überwuchert hatten, stark zurückgedrängt wurden. Ich verfuhr daher beim Aufsuchen der Myxobakterien in derselben Weise.

In Bezug auf die Häufigkeit der einzelnen Species machen sich zwischen Deutschland und Nordamerika erhebliche Unterschiede bemerkbar. Thaxter nennt als die häufigsten Formen die verschiedenen Rassen des *Myxococcus rubescens*, dann *Chondromyces aurantiacus* und *M. virescens*. Bei uns ist nach meinen Beobachtungen *M. rubescens* weitaus am häufigsten. Dann folgen aber *Polyangium fuscum*, *M. virescens* und *M. coralloides*; *Ch. aurantiacus* habe ich dagegen in unserer Gegend überhaupt nicht gefunden. Die große Zahl der übrigen Formen ist relativ selten; doch habe ich beobachtet, daß einzelne Myxobakterien sich an bestimmten Oertlichkeiten sehr reichlich vorfanden. So konnte ich mit Wahrscheinlichkeit darauf rechnen, auf Mist von Wannsee bei Berlin *Ch. serpens* zu finden und ähnlich bei einigen anderen Species. Man wird sich dies

wohl so vorzustellen haben, daß die betreffenden Myxobakterien in den letzten Jahren gerade an diesen Stellen die besten Entwicklungsbedingungen gefunden und sich reichlich vermehrt haben.

Wie schon gesagt, sind die Myxobakterien auf dem nach der oben beschriebenen Methode ausgelegten Mist recht häufig anzutreffen. Nach diesen Befunden bei Laboratoriumskulturen zu schließen, sollte man meinen, sie auch draußen im Freien öfter finden zu können. Dies ist jedoch durchaus nicht der Fall. Trotz vieler Mühe ist es mir bisher nicht gelungen, die Fruchtkörper der einen oder anderen Species im Freien zu entdecken. Die von mir nachstehend aufgeführten Formen kamen mir alle erst in Laboratoriumskulturen. Ebenso hat auch Thaxter die meisten der von ihm beschriebenen Species im Laboratorium erhalten. Nur von einigen Arten von *Chondromyces* und *Polyangium* sind bisher Fruchtkörper im Freien gefunden worden; es rührt dies wohl daher, daß diese Gattungen relativ große widerstandsfähige Fruchtkörper bilden. Die Fruchtkörper der Myxokokken dagegen sind zwar, wenn eben frisch entwickelt, sehr in die Augen fallend. Aber sie zerfallen sehr rasch bei feuchtem Wetter und sind in eingetrocknetem Zustande mit bloßem Auge kaum erkennbar.

Schon aus den Untersuchungen Thaxters ergibt sich, daß wir es in den Myxobakterien wohl mit ziemlich kosmopolitischen Organismen zu tun haben; so hat, um nur ein Beispiel zu erwähnen, Thaxter seinen *Ch. apiculatus* gefunden auf Mist von Canada, Liberia (Afrika) und von den Philippinen. In Uebereinstimmung hiermit zeigte es sich dann, daß die meisten der von mir in der Gegend von Berlin gefundenen Species identisch waren mit solchen, die von Thaxter bereits von anderen weit entfernten Fundorten beschrieben waren. Für einige neue Species, die ich gefunden habe, ist anzunehmen, daß sie eine entsprechend weite Verbreitung haben.

Auch aus einer Reihe tropischer Länder, aus Java, Australien, Südafrika, Algier, Ostafrika und Kamerun, habe ich mir Mistproben kommen lassen und auf das Vorhandensein von Myxobakterien untersucht. Teilweise hatte der Mist durch den langen Transport gelitten, zum Teil erwies er sich aber als sehr ergiebig, besonders der aus Java und Südafrika.

Im Nachstehenden gebe ich eine Zusammenfassung der von mir bisher gefundenen Arten. Ich will dabei nicht nur die bloßen Namen aufzählen, sondern benutze die Gelegenheit, um bei einzelnen Arten, soweit es mir wünschenswert schien, eine etwas eingehendere Beschreibung zu geben. Der Vollständigkeit halber füge ich in der systematischen Aufzählung in kleinem Drucke auch die Arten bei, die ich bisher noch nicht gefunden habe.

Chondromyces apiculatus Th.

Die Farbe der Fruchtkörper ist strohgelb bis schwach orange, das Cystophor fest, gerade, einfach, nur selten mit einem schwachen Seitenast, 200—1000 μ lang, 15—30 μ im Durchmesser, von unten nach oben zu sich verjüngend. An seinem Ende trägt es ein kugeliges Köpfchen von Cysten im Durchmesser von 100—150 μ . Diese sind kugelig oder etwas länglich, ca. 20—30 μ , mit zwei ebenfalls 20—30 μ langen Anhängseln. Die Stäbchen in diesen Cysten sind 2—3 μ lang, 0,4—0,6 μ breit.

Diese prächtige Form wurde einmal auf Kaninchenmist aus Friedrichshagen bei Berlin gefunden. Sie konnte ohne Schwierigkeit auf dem

natürlichen Substrat kultiviert werden. Auf Agar zeigte sie langsames Wachstum und nur hier und da traten einige Fruchtkörper auf. Häufig war hier der Rand des Schwarmes knorpelig verdickt und bestand aus verkürzten Stäbchen. Die Form stimmt insbesondere in dem meist einfachen Stiel und den langen Anhängseln der Cysten mit der von Thaxter beschriebenen Species überein, so daß sie ohne Zweifel als *Ch. apiculatus* zu bezeichnen ist. Von Thaxter beobachtet auf Mist aus Liberia, Canada, von den Philippinen.

Chondromyces crocatus Berkeley u. Curtis.

Die Fruchtkörper sind hell, orangerot, dunkeln nach längerer Zeit teilweise noch bis zu hellbräunlich nach. Sie sind meist 300—600 μ hoch, einige größer; das Cystophor ist einfach oder einige Male verzweigt, ca. 15—60 μ im Durchmesser. Die Cysten, die nur schwach gefärbt sind, sind von verschiedener Form, meist länglich, an den Ecken abgerundet, durchschnittlich 30 μ lang, 10—15 μ breit; die Stäbchen in ihnen sind etwa 2—3 μ lang. Die Cysten in kugeligen Köpfchen von 80—100 μ Durchmesser vereint, häufig zahlreich.

Die Species kam mir auf Mist aus Java, breitete sich auf dem Substrat sehr leicht aus, wuchs auf Agar langsam, brachte jedoch zahlreiche normale Fruchtkörper hervor. Von *Ch. apiculatus* unterscheidet sie sich durch das Fehlen der Anhängsel, ferner sind die Cysten kleiner. Die Verzweigung, die besonders charakteristisch ist, tritt etwa bei $\frac{2}{3}$ der erzeugten Fruchtkörper auf; sie kann so stark sein, daß sich auf einem Stiel 10—15 Köpfchen befinden. Von Thaxter u. a. in Nordamerika, Java gefunden.

Chondromyces aurantiacus Berkeley u. Curtis.

Die Fruchtkörper sind orangefarben bis rötlich. Das Cystophor ist farblos bis gelblich, meist einfach, ca. 200—400 μ lang. Die Cysten sind rundlich bis oval, in nicht sehr großer Zahl am Cystophor, ziemlich breit aufsitzend, zuweilen mit kurzen Anhängseln auf der distalen Seite, ca. 25—50 μ . Stäbchen in ihnen ca. 2—3 μ lang, etwa 0,6 μ breit.

Die Form fand ich auf demselben Mist aus Java, auf welchem *Ch. crocatus* gefunden war. Nach Thaxters Beobachtungen wächst sie vorzugsweise auf altem Holz und Pilzen. Wie mein Fund lehrt, kommt sie auch auf Mist gut fort. Von Thaxter beobachtet in Nordamerika, von Zukal bei Wien.

Chondromyces pediculatus Thaxter.

Im Habitus dem *Ch. apiculatus* ähnlich, ebenfalls mit einfachem Stiel; die Cysten jedoch rundlich, 30—60 μ , mit einem charakteristischen 40—60 μ langen Anhängsel, mit dem sie am Ende des Cystophors zum Köpfchen vereint, befestigt sind. Auf Gänsezung von Thaxter gefunden, Nordamerika.

Chondromyces catenulatus Th.

Stiel gleichfalls einfach, gerade. Die Cysten jedoch bis zu 10 oder 12 in Kettenform aneinander befestigt; eine große Anzahl solcher Ketten mit dem einen Ende an der Spitze des Cystophors befestigt, den Fruchtkörper bildend. Auf verrottetem Pappelholz in Nordamerika von Thaxter beobachtet.

Chondromyces sessilis Th.

Rötlich-orangefarben. Cysten rundlich, durchschnittlich 40—50 μ , ohne Cystophor, auf dem Substrat sitzend. zu einer Rosette von 100—250 μ Durchmesser vereint. Auf verfaulem Holz, Florida, von Thaxter gefunden.

Chondromyces muscorum Th.

Hellgelb-orange, Cysten meist einfach, ohne Cystophor, aufrecht, gerade, in Form einer Zigarre, 90—300 μ lang, 20—50 μ breit. Auf Lebermoosen, an lebenden Buchenstämmen, Nordamerika, von Thaxter gefunden.

Chondromyces erectus (Schroeter) Zukal.

Die Farbe der Fruchtkörper ist rotbraun, beim Eintrocknen dunkelbraun werdend. Auf einer gemeinsamen bis zu $\frac{3}{4}$ mm breiten Grundlage sitzen in mehr oder weniger büscheliger Anordnung eine Anzahl von keuligen oder fingerartigen Fortsätzen, 50–80 μ lang und 20–50 μ im Durchmesser. Jeder von ihnen löst sich als Cyste bei der Reife am Grunde leicht ab. Die Stäbchen in den Cysten 3–6 μ lang.

Thaxter beschreibt als *Ch. erectus* eine Form, welche in der Jugend ca. 60–300 μ lange Cystenträger hat. Das Ende dieser Träger wandelt sich bei der Reife zur Cyste um, während das übrige Stück schrumpft, so daß schließlich die Cysten fast sitzend erscheinen. Bei der Form, die ich gefunden habe, sind so charakteristische Cystenträger auch in jüngeren Stadien nicht oder nur schwach ausgebildet; die Fortsätze, die sich bei der Reife in Cysten verwandeln, erfahren eine nur unbedeutende oder gar keine Verkürzung. Ferner haben auch die Cysten selber eine etwas andere Form, sie sind erheblich länger als breit. Jedoch sind die übrigen Charaktere so übereinstimmend, daß die Form zur obigen Species gestellt werden muß.

Sie wurde zweimal auf Kaninchenmist aus der Umgebung von Berlin gefunden, hatte sich auf dem Substrat nur wenig ausgebreitet, jedoch einige große Fruchtkörper mit zahlreichen Cysten erzeugt. Makroskopisch betrachtet, hat sie in Bezug auf Farbe und Größe einige Ähnlichkeit mit *Polyangium fuscum*, so daß man sie ohne genauere Betrachtung mit der Lupe leicht mit dieser sehr häufigen Species verwechseln und so übersehen kann. Auf Mistagar ließ sie sich nur schlecht kultivieren; nur wenige Fruchtkörper mit einer geringen Anzahl von etwas vergrößerter Cysten wurden gebildet. Auch von Thaxter in Nordamerika mehrmals beobachtet.

Chondromyces gracilipes Th.

Die Farbe ist kräftig rot. Der Fruchtkörper besteht aus einem einfachen, nach oben etwas zugespitzten, ca. 30–40 μ langen, 4–10 μ dicken, fast farblosen Stiel, auf welchem eine einzige, rundliche Cyste von 30–40 μ Durchmesser sitzt, die bei der Reife leicht von dem aufrechtstehenden festen Träger abfällt. Die Stäbchen in ihr sind 3–5 μ lang.

Diese sehr charakteristische Form kam mir mehrere Male auf Kaninchenmist aus der Berliner Umgebung. Das Substrat, auf welchem die Fruchtkörper zu Hunderten produziert waren, erschien, mit bloßem Auge betrachtet, mit lauter kleinen, roten, glänzenden Pünktchen übersät. Will man einige Fruchtkörper unter das Mikroskop bringen, so fallen meist die Cysten ab und man sieht dann Stiele und Cysten getrennt. Jedoch kann man sich die Befestigung der Cysten leicht zur Anschauung bringen, wenn man die Fruchtkörper mit dem Substrat bei schwacher Vergrößerung und auffallendem Lichte von der Seite her betrachtet. Auf Mistagar zeigte die Species gutes Wachstum. Die Fruchtkörper waren zum Teil normal ausgebildet, teilweise bildeten sich besonders am Glasrande der Petri-Schale fadenförmige Wülste. Auch in Nordamerika von Thaxter beobachtet.

Chondromyces lichenicolus Th.

Die Farbe ist ein lebhaftes Rot bis Hellbraun. Die Cysten sind kugelig, ca. 25–45 μ im Durchmesser, zum Teil ohne Stiel, einzeln auf der Oberfläche des Substrats sitzend, zum Teil mit kurzem dicken Stiel. Häufig mehrere Cysten seitlich verschmolzen. Stäbchen 2–3 μ lang.

Die Species fand ich fünfmal auf Kaninchenmist aus der Umgebung von Berlin, ferner auf Ziegenmist aus Norwegen. Thaxter hat die von ihm beschriebene Form nur einmal parasitär auf lebenden Flechten gefunden und teilt mit, daß diese von ihr zerstört wurden.

Eine ähnliche Rasse, die ich zweimal auf faulenden Blättern aus der Umgebung von Berlin gefunden habe, hatte getrennte Cysten, die niemals auch nur eine Andeutung eines Stieles besaßen. Auch bei Kultur auf Agar, die leicht möglich war, trat dieser nicht auf. Ich möchte auch diese Form noch unter dem Begriff *Ch. lichenicolus* fassen, da die Ausbildung eines Stieles bei der von Th. beschriebenen Species nicht ein charakteristisches Merkmal aller Fruchtkörper ist.

Chondromyces serpens Th.

Die Farbe schwankt zwischen blaßrosa und dunkelrot, dunkelt beim Eintrocknen stark nach. Der bis 1 mm große Fruchtkörper wird gebildet von darmartig ineinander gewundenen Schläuchen, welche aus verkürzten Stäbchen von 2—3 μ bestehen. Die Species wurde auf Kaninchenmist aus Wannsee bei Berlin wiederholt gefunden; sie wächst auf Mistagar normal. Nach Thaxter auch in Nordamerika auf verfaulenden Flechten.

Polyangium primigenium nov. spec.

Die Farbe ist rotbraun, beim Eintrocknen dunkelbraun. Die Fruchtkörper sind einzelne, unregelmäßig rundliche, klumpige Massen bis zu 1 mm Größe, im Innern gleichmäßig rötlich, ohne irgend welche Differenzierung aus verkürzten Stäbchen von 3—4 μ Länge bestehend.

Am nächsten steht diese Form dem *Ch. serpens*, mit dem sie bei makroskopischer Betrachtung im Umriß einige Aehnlichkeit hat. Die Farbe ist jedoch bei ihr dunkler. Besonders charakteristisch ist für sie der Mangel jeglicher Ausbildung von Schläuchen, wie sie bei *Ch. serpens* und *P. fuscum* auftreten. Der Inhalt der Fruchtkörper ist ganz homogen. Von *P. simplex* Th. ist die Form unterschieden durch die dunkelrote Farbe, die fehlende oder nur schwach ausgebildete Membran und die Größe; ferner durch das Substrat und die leichte Kultivierbarkeit auf Mistagar unter Beibehaltung ihrer Eigentümlichkeiten. Interessant war, daß der Schwarm auf der Oberfläche des Agars niemals Fruchtkörper bildete. Diese traten nur an den Stellen auf, an welchen der Schwarm den Glasrand der Petri-Schale erreicht hatte. Sie wurde mehrmals auf Kaninchenmist gefunden.

Polyangium fuscum (Schröter) Zukal.

In der Jugend farblos bis hellrot, bei der Reife dunkler werdend, bis kastanienbraun. Cysten in kleineren oder größeren Häufchen beieinander liegend, zuweilen auch einzeln über das Substrat verstreut, ca. 50—150 μ , meist kugelig oder oval elliptisch mit kräftiger Wandung. Die Stäbchen in ihnen 2—3 μ , vegetative Stäbchen 5—13 μ lang.

Die Species kommt nach den Myxokokken in der Umgebung von Berlin am häufigsten unter allen Myxobakterien vor. Während man die übrigen Formen nur ganz vereinzelt und nur in geringer Menge antrifft, kann man mit ziemlicher Sicherheit darauf rechnen, daß man diese Species auf ausgelegtem Miste nach 1—2 Wochen findet. Sogar auf verfaulendem Holz, Blättern etc. habe ich sie mehrmals gesehen. Unter nicht allzu ungünstigen Umständen breitet sie sich auf dem Substrat sehr reichlich aus, so daß oft nach einigen Wochen ein großer Teil des Mistes mit den charakteristischen, braunen Cystenhäufchen bedeckt ist.

Ebenso reichlich und schnell wuchs sie auf künstlichen Nährböden. Nach Thaxter auch in Nord-Amerika verbreitet.

Polyangium vitellinum Link.

Stäbchenmasse vor der Reife weiß, dann zerfallend in mehrere kugelige, 100—300 μ große Teilstücke, die sich mit einer goldgelben Membran umgeben und so zu Cysten werden. 1—8 und mehr Cysten eine Kolonie von 1—4 mm bildend, eingebettet in eine gallertartige Masse, die auch bei der Reife, wenn geschrumpft, die Cysten noch umgibt. Stäbchen in diesen Cysten 1,2—3 μ lang, ca. 0,4 μ breit.

Bei jungen ausgebildeten Cysten sind durch Druck auf das Deckglas der rötliche Schwarm und die Stäbchen im Innern leicht erkenntlich zu machen. Aeltere Cysten sind sehr fest, in ihnen sind Bakterien nicht mehr zu beobachten; zahlreiche ölige, gelbe Tropfen sind im Inhalt vorhanden.

Die Species, die nach Thaxter auch in Amerika häufig ist, wurde mehrmals gefunden, jedoch nur auf feuchtem Holz oder Borke aus Sümpfen oder von Seeufern. Versuche, sie auf Holzagar etc. zu kultivieren, schlugen fehl. Dagegen wuchs die Form auf dem Substrat, auf welchem sie gekommen war, weiter. Dieses Holz, das mit zahlreichen Fruchtkörpern bedeckt war, war im Sommer 1904 in einer Schale ausgelegt worden, die zur Hälfte mit Wasser gefüllt war. Darauf hatte ich etwas frisches Holz hinzugefügt und einige Fruchtkörper auf dieses übertragen. Jedoch hatte sich die Species auch nach 2 Monaten noch nicht weiter ausgebreitet. Die Schale war deshalb beiseite gestellt worden. Als sie nach fast $\frac{3}{4}$ Jahren wieder hervorgeholt wurde, hatten sich überraschenderweise auf dem Holz eine größere Zahl neuer, junger Fruchtkörper gebildet. Vielleicht kann man daraus schließen, daß dieses von den übrigen Myxobakterien so abweichende Verhalten bei der Kultur darauf zurückzuführen ist, daß die Cysten erst nach längerer Ruheperiode keimen.

Polyangium simplex Th.

Cysten einfach, mit dünner Membran, sehr groß, unregelmäßig abgerundet, hell rötlich-gelb, 250—400 μ . Stäbchenmasse fleischfarben, Stäbchen in zahlreichen kleinen Gruppen beim Zerquetschen zusammenhaftend. Stäbchen wie *vitellinum*; ebenfalls an feuchten Orten vorkommend. In Nordamerika oft mit *P. vitellinum* zusammen beobachtet.

Polyangium sorediatum Th.

Die Fruchtkörper sind hell orangerot, von rundlichem Umriß, ca. 200—400 μ im Durchmesser. Sie bestehen aus einer kompakten Masse von sehr kleinen 6—10 μ großen Cysten, welche meist polygonal abgeplattet sind, mit sehr deutlicher Membran. Stäbchen in diesen Cysten ca. 1 μ lang, vegetative Stäbchen 3—5 μ .

Die Species trat einmal auf Damwildmist aus der Dubrow bei Königswusterhausen auf. Sie breitete sich nur wenig aus. Auf Agar wuchs sie ebenfalls schlecht, produzierte jedoch einige normale Fruchtkörper. Von Thaxter einmal in Nordamerika gefunden.

Polyangium septatum Th.

Cystenhäufchen oder Sori gelblich bis rötlich-orange, eine unregelmäßige Masse von 50 bis zu mehreren 100 μ . Cysten unregelmäßig abgerundet, in eine kleinere Anzahl von sekundären Cysten durch Pseudosepten geteilt. Cysten 12—22 μ , sekundäre Cysten 10—12 μ . Auf Pferdedung in Nordamerika zweimal beobachtet von Thaxter.

Polyangium compositum Th.

Gelblich-orange bis rot beim Eintrocknen. Sori aus 4—6 rundlichen, primären Cysten mit gelatinöser Umhüllung bestehend. Diese geteilt in sehr zahlreiche sekundäre Cysten, von unregelmäßig polygonaler Gestalt. Sori 100—170 μ , primäre Cysten ca. 75—100 μ , sekundäre Cysten 10—15 μ im Durchmesser. Kaninchenmist. In Nordamerika von Thaxter gefunden.

Myxococcus rubescens Th. (**Myxococcus ruber** Baur).

Die unten näher beschriebenen Rassen des *M. rubescens* zeigen in der Farbe der Fruchtkörper Verschiedenheiten von farblos bis tiefrot. Die Größe der kugeligen Sporenmassen beträgt 100—1000 μ . Eine besondere Wandung der Fruchtkörper ist nicht vorhanden. Die vegetativen Stäbchen sind 4—7 μ lang, 0,5—0,8 μ breit, die Sporen messen 1,0—1,2 μ . Sporenmassen erst fest, in feuchter Luft nach einiger Zeit zerfließend.

Gemein auf Mist, auch auf altem Holz, verfaulenden Flechten und Pilzen etc. Nach Thaxters Angaben auch in Nordamerika häufig.

Myxococcus virescens Th.

Farbe gelb bis gelbgrün, Fruchtkörper kugelig wie *M. rubescens*. Die Stäbchen 4—7 μ lang, die Sporen jedoch durchschnittlich 1,8—2 μ im Durchmesser.

Häufig auf Kaninchenmist, oft auf Hunde- und Fuchsmist auftretend. Auch in Nordamerika nicht selten.

Myxococcus coralloides Th.

Fruchtkörper blaßrötlich, sehr klein und zahlreich, von außerordentlich unregelmäßiger Gestalt; korallenartige Massen mit zahlreichen kurzen abgerundeten Fortsätzen. Stäbchen 3—7 μ , Sporen 1—1,2 μ . Fruchtkörper meist 50—200 μ .

Die Species fand ich häufig auf Mist; sie ließ sich leicht kultivieren. Auch mehrmals von Thaxter beobachtet.

Myxococcus digitatus nov. spec.

Fruchtkörper blaßrot, länglich, aufrecht, mit nur wenigen, fingerförmigen Fortsätzen, fest, 25—40 μ breit, 75—150 μ lang, Sporen 1—1,2 μ , Stäbchen 4—7 μ .

Die Form steht *M. coralloides* nahe, unterscheidet sich aber in charakteristischer Weise durch die längeren, in geringer Zahl auftretenden Fortsätze. Sie kam auf Mist aus Kapstadt; ließ sich leicht auf Agar kultivieren.

Myxococcus clavatus nov. spec.

Fruchtkörper blaßrötlich, fest, aufgerichtet, fingerförmig bis keulig. 200—400 μ hoch, oben bis 150 μ , am Stiel bis 75 μ im Durchmesser, ohne Membran. Sporen ca. 1 μ , Stäbchen 3—6 μ lang.

Diese Form gehört ebenfalls zur Gruppe des *M. coralloides*; von dem nahestehendem *M. cirrhosus* ist sie unterschieden einmal durch die Größe, dann besonders dadurch, daß nicht die Basis, sondern das obere Ende verdickt ist.

Ich fand sie mehrere Male auf Kaninchenmist; sie ließ sich gut auf Agar kultivieren, bildete aber darauf oft fast kugelige Fruchtkörper.

Myxococcus stipitatus Th.

Farbe weiß bis fleischfarben, Sporenmasse kugelig, an der Spitze eines deutlich entwickelten Stieles. Sporen oval, 0,8—1,2 μ bis 1—1,5 μ . Sporenmasse ca. 175 μ im Durchmesser, Stiel 100—200 μ bis 30—50 μ . Auf Schafdung in Nordamerika von Thaxter mehrere Male gefunden.

Myxococcus cirrhosus Th.

Blaßrot oder fleischfarben. Sporenmasse länglich, aufrecht, mit verdickter Basis, nach oben verschmälert. Sporen unregelmäßig rundlich, ca. 1 μ im Durchmesser. Stäbchen 2—5 μ oder länger. Sporenmasse 50—100 μ hoch, 20 μ im Durchmesser an der Basis. Auf Mist von Vögeln in Nordamerika gefunden.

Myxococcus cruentus Th.

Tiefblutrot. Cysten kugelig, mit mehr oder weniger deutlicher Wandung. Sporen

eingebettet in amorphe Masse, Stäbchen 3—8 μ lang, Sporen 0,9—1,4 μ , Cysten 90 bis 125 μ . Kuhmist. In Nordamerika von Thaxter beobachtet.

Myxococcus disciformis Th.

Cysten scheibenförmig, gehäuft, zuerst blaßrot, später stark orangegebl, rundlich bis oval. Wandung ausgebildet. Cysten 30—35 μ im Durchmesser bei 10 μ Breite, Stäbchen 2—3 μ , Sporen unregelmäßig kugelig, kaum erkennbar. Mist von Bisamratten. In Nordamerika von Thaxter zweimal gefunden.

Von einigen Funden, die ich in jüngster Zeit gemacht habe, deren Untersuchung jedoch noch nicht abgeschlossen ist, werde ich in einer weiteren Mitteilung Nachricht geben.

In seiner Arbeit vom Jahre 1896 gab Zukal eine im wesentlichen richtige Beschreibung des *Ch. crocatus*, in welchem er jedoch einen Myxomyceten gefunden zu haben glaubte. Auf die Untersuchungen Thaxters aufmerksam gemacht, gab er schließlich zu, daß sein neuer Myxomycet wohl das genannte Myxobakterium sei. In einer folgenden Abhandlung beschrieb er ferner *Polyangium vittellinum*, das er auf feuchtem Holz gefunden hatte und erwähnt nebenbei das Vorkommen von 4 *Chondromyces*-Species in der Nähe von Wien, ohne jedoch irgend eine Beschreibung oder Abbildungen von dem Gefundenen zu liefern. Dagegen veröffentlichte er die Diagnose und mehrere Beobachtungen über eine neue von ihm entdeckte Species *Myxococcus macrosporus* Zuk. Dieser besitzt nach seinen Angaben einen roten, kugeligen bis tropfenartigen Schwarm, bei dem in der Jugend die vegetativen, garbenartig angeordneten Stäbchen die Basis und die Mitte, die Sporen den peripherischen Teil einnehmen. Diese Sporen sollen 3 μ Durchmesser besitzen, die Stäbchen 4—7 μ lang und 0,1—1,5 μ breit sein. Die Sporenbildung verläuft in der Art, daß die Stäbchen etwas in die Länge wachsen und sich dann gleichzeitig durch mehrere Querwände so teilen, daß jedes Stäbchen in 4—6 isodiametrische Zellen abgeteilt wird. Diese runden sich ab, vergrößern sich bedeutend und umgeben sich schließlich mit einer derben Haut. Dieser Vorgang findet jedoch nicht gleichzeitig statt, sondern so, daß die Sporenbildung zuerst an den Spitzen der peripher liegenden Stäbchen beginnt und dann allmählich ins Innere fortschreitet, sodaß an einem Schnitt durch einen solchen Fruchtkörper sämtliche Stadien gleichzeitig zu beobachten sind.

Das Gebilde, das Zukal hier als *Myxococcus* beschreibt, weicht, wie ein oberflächlicher Vergleich lehrt, ganz wesentlich von den durch Thaxter und Baur bekannt gewordenen Myxokokken ab. Sämtliche Myxobakterien breiten sich, wenn sie überhaupt auf Agar wachsen, in Form eines vegetativen Schwarmes auf der Oberfläche aus; Zukals *macrosporus* soll nur kleine, punktförmige Tröpfchen bilden. Die Sporengröße und Stäbchenbreite sind ebenfalls ganz abnorm und von den Befunden bei den übrigen Formen abweichend. Die sonderbare garbenförmige Lagerung der Stäbchen im Schwarm und die nicht minder sonderbare Sporenbildung schließen einen Zusammenhang dieses Organismus mit den Myxokokken überhaupt vollständig aus. Die Figur 2, die Zukal¹⁾ von seiner Species gibt, läßt dagegen mit Wahrscheinlichkeit darauf schließen, daß er einen konidienbildenden Hyphomyceten vor sich gehabt hat. Wie er aber dabei Bakterien sehen konnte, ist mir nicht verständlich.

In einer schon erwähnten Notiz beschreibt Miss A. L. Smith einen *Myxococcus* unter dem Namen *M. pyriformis*. Er kam auf Kaninchenmist, war hellrötlich, orangefarben und von birnenförmiger Gestalt.

1) Zukal, 1897. l. c.



Auf Gelatine gab er eine kleine farblose Kolonie von Stäbchen. Thaxter ist der Ansicht, daß die in der Gelatine gewachsenen Stäbchen auf Verunreinigungen zurückzuführen seien. Nach meinen Beobachtungen ist das Wachstum eines *Myxococcus* in diesem Nährboden ganz richtig geschildert. Leider ist versäumt worden, die Form auf Agar zu kultivieren, auf welchem sie wahrscheinlich normal gewachsen wäre. Wegen der abweichenden Form und Farbe soll es nun eine neue Species sein. Jedoch wachsen die *Rubescens* und *Virescens*-Rassen zuweilen auch etwas oval oder birnförmig; die Farbe ist ebensowenig charakteristisch, wie ich weiter unten ausführen werde. Es wird sich daher wahrscheinlich um eine Form des *M. rubescens* gehandelt haben.

Wie die Beschreibung der Fruchtkörper von *Ch. serpens* zeigt, treten bei dieser Species weder Cysten noch Cystophoren auf. Nun könnte man bei Betrachtung der ausgebildeten Fruchtkörper meinen, daß ihre eigentümliche Gestalt dadurch zu stande gekommen sei, daß ursprünglich einzelne getrennte Cysten, wie solche bei *Polyangium fuscum* vorhanden sind, angelegt worden seien. Diese könnten dann zusammengefloßen sein. Der Entwicklungsgang ist jedoch ein anderer. Bei der Reife bilden die Stäbchen zuerst ein hellfarbiges Häufchen, in welchem sie in einer schleimartigen Masse gleichmäßig verteilt sind. Dann wird die Farbe intensiver, und gleichzeitig ordnen sich die Stäbchen an bestimmten Stellen so an, daß sie ein darmartig ineinandergewundenes System von Schläuchen bilden. Die Zwischenräume zwischen diesen Schläuchen werden dabei ganz frei von Stäbchen. Es werden also Cysten gar nicht angelegt.

Vergleichen wir nun hiermit das Verhalten von *Polyangium fuscum* auf Peptonagar. Die regelmäßige Cystenbildung wird hier, wie p. 29 geschildert werden wird, erschwert. Während jedoch die Bildung der Cysten teilweise garnicht, teilweise sehr spät eintritt, finden wir jedesmal eine Anhäufung von Stäbchen in ganz ähnlicher Weise wie bei *Ch. serpens*, also unregelmäßig ineinandergewundene Schläuche. Nach einigen Wochen zerfallen diese dann bei einzelnen Kulturen in zahlreiche Stücke, und jedes von diesen wandelt sich in eine Cyste um; in den übrigen Fällen bleibt die Bildung des Fruchtkörpers auf dem *Serpens*-Stadium stehen. Ja, auch bei den auf natürlichem Substrat sich entwickelnden Fruchtkörpern von *P. fuscum* kann man, wenn auch weniger deutlich, den Vorgang der Cystenbildung durch Zerfall von darmartigen Wülsten beobachten.

Dieses Verhalten deutet wohl darauf hin, daß *Ch. serpens* mit *Polyangium fuscum* nahe verwandt ist, und ihm gegenüber eine niedrigere phylogenetische Entwicklungsstufe einnimmt.

Vergleichen wir mit diesen beiden Species das *Polyangium primigenium*, das in der Pseudofruktifikation nur aus einem einfachen Häufchen von verkürzten Stäbchen besteht, so können wir eine aufsteigende Entwicklungsreihe *P. primigenium*, *Ch. serpens*, *P. fuscum* konstruieren. Daher würde dann *Ch. serpens* nicht als *Chondromyces*, sondern als *Polyangium serpens* zu bezeichnen sein.

Es fragt sich überhaupt, ob nicht die beiden Gattungen *Polyangium* und *Chondromyces* in eine einzige Gattung zusammengefaßt werden sollten, da die Unterschiede zwischen ihnen nicht so groß sind, daß sie zu einer Abtrennung berechtigen. Doch wäre es noch verfrüht, diese Frage jetzt schon endgültig zu entscheiden. Es kann sich vorläufig

nur darum handeln, eine möglichst genaue Kenntnis der zahlreichen Myxobakterienformen zu erlangen. Die zusammenfassende systematische Bearbeitung des Materials muß einer späteren Zeit überlassen bleiben.

Wenn man längere Zeit auf das Vorkommen der Myxobakterien achtet, so fällt bald das verschiedene Aussehen der kugeligen Myxokokken auf, die ja, wie schon erwähnt, sehr häufig auf ausgelegtem Mist auftreten. Insbesondere erregen die Differenzen in der Farbe die Aufmerksamkeit. Man sieht ganz intensiv leuchtend rote Formen, daneben rosafarbige in allen Schattierungen bis zu blassem Weißlichrosa. Einzelne sogar ganz farblos oder milchweiß. Andere wieder zeigen orange, gelbe oder grünliche Farbentöne. Thaxter, dem diese verschiedenen Formen während seiner eingehenden Untersuchungen auch aufgefallen waren, erwähnt in seiner letzten Arbeit diese Tatsache und knüpft daran die Bemerkung, daß es wohl nicht möglich sein würde, diese Formen in den beiden von ihm anfangs aufgestellten Species *M. rubescens* und *virescens* zusammenzufassen. Wahrscheinlich müßte hier eine ganze Anzahl von Arten getrennt werden. Ebenso hat Baur die roten, gelbroten, rosafarbenen, gelben, gelbgrünen Fruchtkörper der Myxokokken häufig beobachtet und mehrere Formen in Reinkultur gezüchtet, aber den etwaigen Zusammenhang dieser Formen nicht eingehender untersucht.

Es erhob sich nun hier die Frage: In welchem Verhältnis stehen diese verschiedenartigen Formen zueinander? Man könnte sich vorstellen, daß man es hier nur mit einer einzigen Species zu tun hätte, die unter veränderten Bedingungen verschiedene Farben annehme, die eine so große Variationsbreite besäße, daß sie einmal einen roten, ein andermal einen weißlichen oder grünlichen Farbenton zeige. Man könnte sich aber auch vorstellen, daß diese verschiedenen Farben charakteristische Merkmale verschiedener Sippen¹⁾ seien. Wenn dies letztere der Fall wäre, so würde weiter zu fragen sein, wie diese Sippen als Species voneinander abzugrenzen seien, und ob nicht diese kleinen Arten doch eine geringe Variationsbreite besäßen. Zu untersuchen wäre ferner, ob neben diesen Unterschieden in der Farbe die einzelnen Sippen vielleicht noch andere Eigentümlichkeiten besäßen, z. B. in Bezug auf Größe und Zahl der Fruchtkörper, Intensität des Wachstums etc., und ob diese vielleicht mit zur Unterscheidung herangezogen werden könnten.

Ich suchte diese Fragen zu beantworten, indem ich eine Anzahl verschiedener Formen längere Zeit züchtete und in ihrem Verhalten beobachtete. Natürlich konnte dies nur an Reinkulturen geschehen, die ich nach dem Vorgange Baur's in der Weise herstellte, daß ich zuerst einige Fruchtkörper oder Sporen auf der Oberfläche von Mistdekotagar ausstrich. Nachdem darauf der Schwarm sich ausgebreitet hatte, wurde von einer Stelle, welche möglichst frei von Verunreinigungen zu sein schien, weiter abgeimpft und dies so lange wiederholt, bis die Form ohne jede Verunreinigung auf dem Nährboden der Petri-Schale wuchs. Bei üppig wachsenden Sippen gelangte ich auf diese Weise unter Beachtung einiger Vorsichtsmaßregeln bald zum Ziel. Bei Sippen, die nur schwaches Wachstum zeigten und wenig Fruchtkörper produzierten, gelang die Reinzüchtung häufig nur schwierig.

Nach dieser Methode habe ich von den Myxokokken 7 Sippen reingezüchtet. Ferner überließ mir Dr. Baur die Reinkultur einer Sippe (*M. ruber* Baur), die er bei seinen Untersuchungen benutzt hatte.

1) Im Sinne von Correns gebracht.

Thaxter hatte bei den fraglichen Myxokokken, wie schon angegeben, zwei Species unterschieden, *M. rubescens* und *virescens*, der erstere mit rötlicher, der letztere mit gelber bis grüner Farbe. Neben der Farbe war ihm noch der Unterschied in der Sporengröße aufgefallen; *rubescens* hatte kugelige Sporen von 1—1,2 μ , *virescens* dagegen solche von 1,8—2 μ Durchmesser. Bei den zahlreichen Formen, die ich untersucht habe, ist dieser Unterschied immer deutlich hervorgetreten; die gelben und grünlichen Formen zeigten einen erheblichen Unterschied in der Größe gegenüber den rötlichen, so daß aus einem Häufchen von durcheinander gemischten Sporen beide Formen voneinander unterschieden werden konnten. Ich richtete mein Augenmerk nun insbesondere darauf, Zwischenformen in der Sporengröße und damit einen Uebergang zwischen beiden Species zu finden, doch ohne Erfolg.

Die Farbe der Formen mit großen Sporen war fast immer gelb bis grün. Eine Reinkultur einer solchen großsporigen Sippe zeigte, solange ich sie beobachtete, eine rein gelbe Farbe, ohne Abweichung nach rot hin. Dagegen fanden sich bei einer unrein gewachsenen Form, die ich nicht in Reinkultur bekommen habe, neben den grünlichen Fruchtkörpern solche von orange oder rötlicher Farbe. Da nun hier die Reinzüchtung nicht gelang, so konnte ich mir kein Urteil darüber bilden, ob diese Farbänderung aus inneren Ursachen eingetreten war, oder vielleicht nur durch das Zusammenleben mit anderen Organismen bedingt war. Ebenso wuchs ein *Myxococcus*, dessen Sporen 1,8—2 μ maßen, auf dem natürlichen Substrate orangefarben, zeigte aber dann auf künstlichen Nährböden konstante grünliche Farbe. Die übrigen großsporigen Formen, die ich einige Zeit auf Agar kultiviert habe, wuchsen konstant gelb und grün.

Es steht also fest, daß die bisher gefundenen Myxokokken, deren Sporen 1,8—2 μ messen, in ihrer großen Mehrzahl gelb bis grün wachsen, daß einzelne Abweichungen in der Farbe vorkommen, aber nicht dauernd sind, und auch nicht in Reinkulturen beobachtet worden sind. Wir müssen demnach die gelben bis grünen Myxokokken als besondere Species abtrennen auf Grund ihrer Sporengröße und Farbe. Wenn nun, was ja nicht unmöglich ist, einzelne Rassen aufgefunden würden, die in ihrer Farbe mehr nach rot neigten und doch Sporen von 1,8—2 μ besäßen, so dürften wir bei *M. virescens* die Farbe nicht mehr als charakteristisches Merkmal ansehen. Dagegen bliebe immer noch der Unterschied in der Sporengröße. Da wir keine Uebergänge zwischen Sporen von 1—1,2 μ und 1,8—2 μ kennen, so würde ich auch unter diesen Umständen auf Grund der abweichenden Sporengröße und der gelbgrünen Farbe, die ja auch dann nur ausnahmsweise eine andere sein würde, die Species als *Myxococcus virescens* Th. beibehalten.

Nach Abtrennung der großsporigen Myxokokken handelte es sich jetzt nur noch darum, das Verhältnis der kleinsporigen, weißen, rosa, orange und roten Formen zueinander festzustellen. Ich untersuchte zu dem Zweck 7 verschiedene Sippen, die im folgenden mit I—VII bezeichnet werden. Diese 7 Sippen waren auf Mist, der bei 29° im Thermostaten gehalten war, oder auch bei Zimmertemperatur gekommen. Sie wurden auf Mistdekotagar übergeimpft, möglichst schnell reingezüchtet, und dann in ihren Eigenschaften beobachtet.

I. Der Stamm, welchen Dr. Baur zu seinen Untersuchungen benutzt hatte, war auf Mist mit großen, leuchtend rot gefärbten Fruchtkörpern gewachsen. Auch nach einjähriger Kultur auf Agar waren diese

durchschnittlich sehr groß, häufig bis 1 mm. Ebenso zeichnete sich die Sippe aus durch große Intensität des Wachstums. An Schnelligkeit der Ausbreitung, an Fähigkeit des Ertragens extremer Temperaturen übertraf sie die übrigen Rassen.

II. Der Stamm wuchs in Farbe und Größe deutlich unterschieden von I, kräftig rosa. Während der Züchtung bei 29° wurden die Fruchtkörper etwas größer und intensiver gefärbt, so daß sie nicht mehr scharf unterscheidbar waren von I. Das Wachstum war ebenso kräftig. Bei Zimmertemperatur wuchs er entsprechend schwächer, aber mit derselben Farbe.

III. Die Form war auf Mist orange gefärbt; nach längerer Kultur bei 29° zeigte sie eine rosa Farbe, erheblich heller als die beiden ersten Sippen. Sie wuchs auf Mist ebenso wie auf den Nährböden bei 20° und 29° relativ schwach und produzierte wenige, aber ziemlich große Fruchtkörper.

IV. Wuchs auf Mist mit großen weißen Fruchtkörpern. Abgeimpft war sie nach 3 Generationen bei 29° rosa geworden, ebenso wie III, wuchs aber intensiver; blieb bei weiterer Kultur konstant.

V. Die Rasse kam auf Mist farblos bis weißlich. Nach 1/2-jähriger Kultur bei 29° hatte sie sich nicht verändert. Dagegen wuchs sie bei Zimmertemperatur nach 2—3 Generationen mit schwachrosa Farbe. Jedoch verstärkte sich dieses weißlich-rosa auch nach monatelanger Kultur bei niedriger Temperatur nicht. Die Intensität des Wachstums war eine mittlere, die Fruchtkörper klein und zahlreich.

VI. Die Sippe wurde abgeimpft von Fruchtkörpern, die bei Zimmertemperatur rosa gekommen waren. Diese waren auf dem Mist und ebenso auf dem Agar klein, die Wachstumsintensität eine geringe. Die Farbe blieb konstant.

VII. Wuchs schwach mit konstant hellrosa Farbe und zahlreichen kleinen Fruchtkörpern. Bei höherer Temperatur farblos bleibend.

Es machten sich also bei den untersuchten Formen hauptsächlich Unterschiede in Bezug auf Farbe, Intensität des Wachstums, Größe der Fruchtkörper und Beeinflussung durch Temperatur geltend. Diese Verschiedenheiten waren in hohem Grade konstant und charakteristisch für die verschiedenen Sippen. Es traten zwar kleine Abweichungen von der normalen Ausbildung auf, z. B. war die Farbe zuweilen etwas heller oder dunkler, die Fruchtkörper manchmal größer oder kleiner. Es waren dies aber nur individuelle Abweichungen, der Durchschnittstypus blieb derselbe.

Das verschiedene Verhalten der einzelnen Sippen gegenüber der Temperatur macht sich vorzugsweise für die Pigmentproduktion geltend. Es ist dies schon bei den Myxokokken zu beobachten, die auf ausgelegtem Mist bei verschiedenen Temperaturen kommen. Bei 20° sieht man in den Schalen nur selten ganz farblose Formen, dagegen zahlreiche weißlich-rosafarbige neben den rosa und roten Formen. Bei höherer Temperatur wächst die Zahl der farblos wachsenden Sippen, und bei 29° sind diese vielleicht 1/3 aller überhaupt auftretenden. Impft man nun von solchen weißlichen Fruchtkörpern ab, so bleiben sie bei 29° weiter kultiviert entweder farblos, wie V und VII, oder aber sie beginnen, Farbstoff zu produzieren, wie IV.

Wir sehen also folgendes: Die Mehrzahl der Pigment erzeugenden Sippen wird nur wenig oder gar nicht durch höhere Temperatur in ihrer Farbbildung beeinflusst; einzelne andere Sippen, wie IV, verlieren bei

erstmaliger Kultur unter diesen Bedingungen ihren Farbstoff, welcher aber bald wieder auftritt. Schwächer pigmentierte Sippen verlieren den Farbstoff bei höherer Temperatur, ohne daß dieser zurückkehrt.

In der Intensität des Wachstums sind die Unterschiede zwischen den verschiedenen Sippen sehr große. Zwischen den üppig wachsenden Formen wie I und II, die sich auf Mist- und Mistagar sehr schnell ausbreiten, zahlreiche und große Fruchtkörper erzeugen und den schwach wachsenden Formen sind erhebliche Unterschiede vorhanden. Ja, einzelne nicht näher untersuchte andere Sippen, die auf Mist nur schwach wuchsen, sind auf Agar überhaupt nicht in Kultur zu bekommen. Entsprechend dieser verschiedenen Wachstumsintensität sind auch Verschiedenheiten in der Ausbildung des vegetativen Schwarmes vorhanden. Die kräftig wachsenden Sippen besitzen einen scharfen Rand, bei den schwächeren Formen ist er weniger deutlich ausgeprägt. Das mikroskopische Bild (Fig. 1) zeigt, daß diese Abweichungen ihren Grund haben in einer größeren oder geringeren Anzahl von Stäbchen am

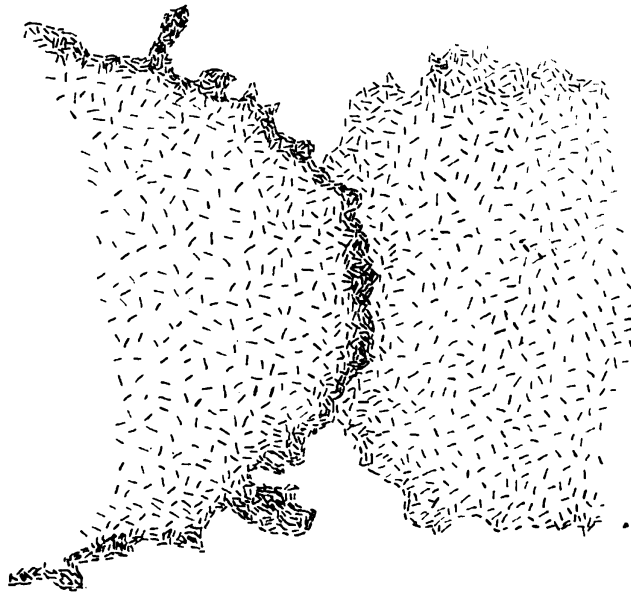


Fig. 1.

Schwarmrande. Häufig ist auch der Rand in spezifischer Weise ausgebildet, z. B. verschieden ausgezackt. Diese Eigentümlichkeiten halten sich bei längerer Kultur konstant, so daß man schon aus dem Aussehen und der Randbildung des Schwarmes einzelne Sippen erkennen kann.

Die oben beschriebenen 7 Sippen zeigten während der Kultur keine wesentlichen Aenderungen ihrer Eigenschaften. Ich versuchte nun, ob ich durch Auseinanderzüchten eine Spaltung einer Sippe in zwei oder mehrere

neue zu stande bringen könnte. Insbesondere suchte ich verschiedene Farben zu trennen. Zu diesem Zwecke wurde ein Stamm auf der Agaroberfläche einer Petri-Schale kultiviert; dann wurde von einem möglichst intensiv gefärbten Fruchtkörper und andererseits von einem nur schwach pigmentierten abgeimpft. Die so erhaltenen beiden Kulturen wurden dann längere Zeit hindurch in derselben Weise „auf Hell oder Dunkel“ gezüchtet. So habe ich während 15—20 Generationen versucht, aus der stark pigmentierten Rasse I eine hellere Form zu ziehen, andererseits aus der farblosen Rasse V eine intensiver gefärbte. Dieselben Versuche habe ich mit den Rassen III und IV gemacht. Das Ergebnis war gleich null. Durch derartige Auslese war keine Trennung verschiedenfarbiger Sippen zu erzielen.

Es erhob sich nun die Frage, wie diese verschiedenen Sippen sich zueinander verhalten würden, ob sie z. B. Mischrassen bilden könnten. Ich strich Sporen von zwei verschiedenen Stämmen an einer und der-

selben Stelle aus. Das Resultat war, daß sich nur einer von beiden entwickelte, während der andere Stamm unterdrückt wurde. Dagegen machte sich eine interessante Erscheinung bemerkbar, wenn ich zwei verschiedene Sippen in kleinem Abstände nebeneinander auf dem Agar impfte. Es traten dann zwei Schwärme auf, die sich kreisförmig ausbreiteten. Bald berührten sie sich mit einem Teil ihres Umfanges. Es fand nun aber nicht ein Ineinanderfließen der Bakterien Schwärme statt, wie man wohl hätte erwarten können. Vielmehr blieben die beiden Schwärme gesondert, so daß eine auch makroskopisch deutliche Trennungslinie vorhanden war. Ein mikroskopisches Bild dieser Berührungsstelle gibt Fig. 1. In der Nähe dieser Stelle fand kein weiteres Wachstum statt, auch wurden hier keine oder nur kleine Fruchtkörper gebildet; an den übrigen Stellen des Umfanges wuchsen dagegen die Schwärme weiter.

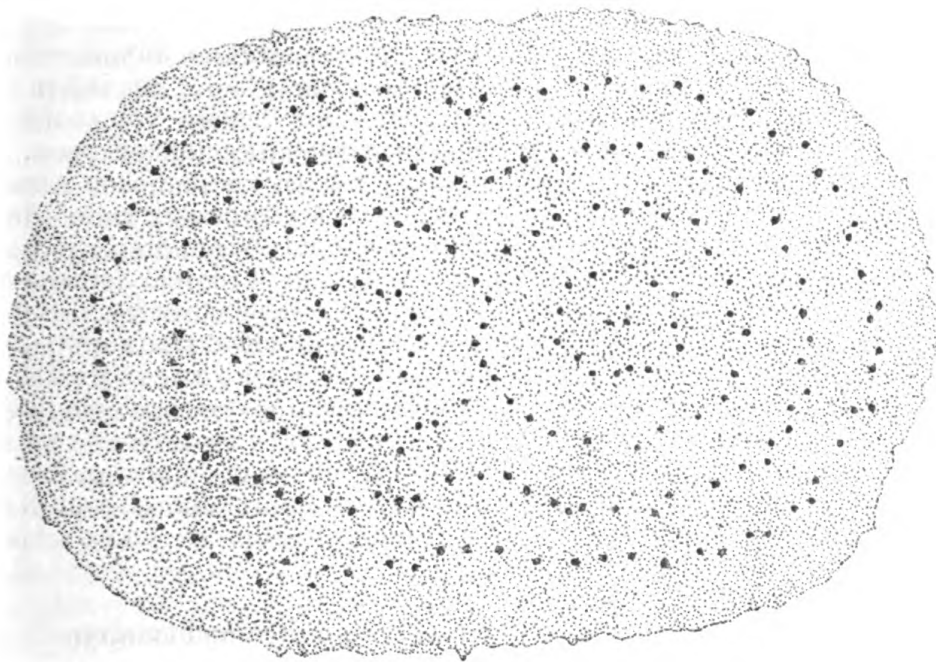


Fig. 2.

Sämtliche von mir untersuchten Sippen verhalten sich in der angegebenen Weise zueinander. Impfte ich dagegen von derselben Sippe an zwei verschiedene Stellen der Agaroberfläche, so gingen die beiden Schwärme an der Berührungsstelle sofort ineinander über und wuchsen dann gemeinsam weiter (Fig. 2). Man könnte nun meinen, daß das Nichtzusammenfließen schon dann auftreten würde, wenn man zwei Stämme desselben Ursprungs längere Zeit getrennt kultivierte. Ich habe dies, wie schon oben angegeben, für mehrere Sippen während 15–20 Generationen getan. Als ich dann die beiden Stämme nebeneinander auf dem Agar ausimpfte, gingen die Schwärme ebenfalls bei der Berührung sofort ineinander über. Die Unterschiede, die sich in dem Nichtineinanderwachsen geltend machen, sind also viel fester begründet.

Fassen wir das Gefundene zusammen, so haben wir folgendes: Die isolierten sieben Sippen unterschieden sich durch verschiedene Farbe, Intensität des Wachstums, Größe und Zahl der Fruchtkörper, verschie-

dene Beeinflußbarkeit durch die Temperatur und ferner dadurch, daß die vegetativen Schwärme verschiedener Sippen nicht ineinander wuchsen. Diese Eigentümlichkeiten waren, soweit beobachtet, im wesentlichen konstant. Eine experimentelle Neuzüchtung von Sippen war nicht möglich. Wir hatten es also mit einer Anzahl von natürlichen Sippen, von großer Beständigkeit zu tun. Nach den bisherigen Gepflogenheiten in der Systematik, alles, was konstant verschieden ist, als besondere Species zu kennzeichnen, müßten wir hier also eine Reihe von Arten aufstellen. Wie soll man aber die Species abgrenzen? Es fanden sich in der Farbe Abstufungen von farblos bis intensiv rot, in der Intensität des Wachstums und dem Verhalten zu höheren Temperaturen große Verschiedenheiten. Es wäre hierbei ganz unmöglich, einen festen Maßstab für eine etwaige Unterscheidung zu gewinnen. Wollten wir dennoch alles konstant Verschiedene als Art beschreiben, so hätten wir bald ein Wirrwarr von Diagnosen und „Arten“, in dem sich schließlich Niemand mehr zurechtfinden könnte.

Wir entgehen diesem, wenn wir die beobachteten Sippen als eine einzige Art zusammenfassen. Diese ist dann eine Abstraktion über einen gewissen Formenkreis, d. h. über eine Anzahl von nahe verwandten, aber in ihren Verschiedenheiten sehr beständigen Sippen. Man ist in jüngster Zeit ja auch bei anderen Pflanzen zu ähnlichen Anschauungen gekommen. Man nimmt für sexuell sich reproduzierende Pflanzen als Elemente einer „Art“ eine Anzahl von nahe verwandten, aber konstanten Sippen (Linien Johannsens) an, durch deren fortwährende Verbastardierung ein gewisser Mitteltypus geschaffen wird. Bei den Bakterien, bei denen eine solche Vermischung nicht stattfindet, treten die verschiedenen Sippen schon in der Natur rein nebeneinander auf.

Thaxter hatte bei seinen Untersuchungen die verschiedenen Sippen, die oben beschrieben worden sind, als *Myxococcus rubescens* Th. zusammengefaßt. Dieser Begriff deckt sich also mit dem, was ich oben als Art zusammenfassen will. Es ist daher wohl richtig, diesen Namen beizubehalten und auch den von Baur aufgestellten *M. ruber* hierher zu rechnen.

Physiologische und morphologische Beobachtungen.

a) Die Keimung der Sporen.

Ueber die Keimung der Myxobakterien macht Thaxter folgende Angaben: An ausgetrockneten *Myxococcus*-Sporen beobachtete er, nachdem er sie in eine Nährlösung gebracht hatte, daß die Sporen allmählich eine kurze Stäbchenform annahmen ohne Zurücklassung einer Sporenwandung. Eine etwaige weitere Entwicklung, Vermehrung durch Teilung, etc. hat er nicht beobachten können. Dagegen erhielt er reichlich Keimungen in van Tieghem-Zellen, indem er auf der Unterseite eines Deckglases einige Sporen antrocknen ließ, diese dann mit bei gewöhnlicher Temperatur erstarrendem Nähragar bedeckte und so auf die Zelle setzte. Er beobachtete nach 1 bis 2 Wochen, daß sich in der Spore ein kurzes Stäbchen gebildet hatte, welches schließlich die Sporenwandung durchbrach und herauskroch, wobei also die Sporenmembran zurückblieb. Baur, der die Keimung ebenfalls an Sporen an *M. rubescens* genau untersucht hat, berichtet darüber ganz anders. Nach seinen Angaben keimen die Sporen in feuchter Kammer, mit einem Tropfen Mistwasser anstatt des Agars bedeckt, in der Weise, daß die Spore mit der Membran allmählich zu einem normalen Stäbchen heranwächst.

Ich habe deshalb die Keimung von *M. rubescens* nochmals einer genauen Betrachtung unterzogen. Die Sporen ließ ich ebenfalls am Deckglase einer feuchten Kammer antrocknen und bedeckte sie dann mit einem Tropfen Kartoffel- oder Mistdekot. Nach 3—4 Stunden beobachtete ich dann bei 18—20°, daß die ursprünglich etwa 1—1,2 μ großen Sporen auf 1,2—1,5 μ Durchmesser gewachsen waren, und ihren Glanz verloren hatten. Nach 6 Stunden begannen sie zum größten Teil eiförmige Gestalt anzunehmen; nach 7—7 $\frac{1}{2}$ Stunden waren sie zu Stäbchen von 2,5—3 herangewachsen. In diesem Stadium begannen sie teilweise schon sich zu bewegen, und wuchsen dabei in den nächsten Stunden auf die normale Länge heran. Bei 30° Temperatur verläuft die Keimung so, daß ein kleinerer Teil der Sporen erheblich schneller schon in ca. 6 Stunden alle Wachstumsstadien durchläuft, während die Hauptmenge der Sporen sich erheblich langsamer entwickelt. Nach 8—9 Stunden haben aber auch diese gekeimt.

Bei einer Versuchsanordnung, wie sie Thaxter angewandt hat, also mit festem Nähragar anstatt des Tropfens ist mir ebenso wie Baur nicht gelungen, die Sporen zur Keimung zu bringen.

Thaxter, der ja beide Arten der Keimung beobachtet hat, meint nun, das einfache Auswachsen der Sporen zu einem stäbchenförmigen Gebilde sei wohl als pathologischer Vorgang aufzufassen; dagegen sei die Keimung unter Nähragar der normale Verlauf. Nach meinem Dafürhalten liegt die Sache gerade umgekehrt. Wenn eine Keimung in der Art, wie sie Thaxter schildert, vorkommt — Baur und ich haben sie nicht beobachten können — so muß sie als ein abnormer Vorgang angesehen werden; denn sicherlich vollzieht sich eine Keimung unter erstarrtem Nähragar unter Bedingungen, die mehr von den in der Natur vorkommenden Verhältnissen abweichen, als eine solche unter einem Tropfen Mistwasser. Thaxter hat nun, wie er angibt, das einfache Auswachsen der Sporen zu stäbchenartigen Gebilden im Tropfen Nährwasser beobachtet, aber nicht eine weitere Entwicklung. Baur hat dagegen nicht nur diese Keimung, sondern auch die Entstehung eines regelmäßigen Schwarmes, ja sogar schließlich auch Fruchtkörperbildung, d. h. also den ganzen Entwicklungsgang eines Myxobakteriums unter dem Deckglase einer feuchten Kammer verfolgen können. Ich selbst habe ferner die Teilung der aus den Sporen direkt herangewachsenen Stäbchen ebenfalls in der feuchten Kammer ohne Schwierigkeit beobachtet. Es ist dies wohl ein Beweis dafür, daß die Myxobakterien bei dieser Versuchsanordnung sich unter Bedingungen befanden, die denen in der Natur sehr nahe kommen. Thaxter hat dagegen nur die Keimung unter dem Nähragar verfolgt; eine weitere Entwicklung zum Schwarm etc. wird ihm nicht gelungen sein, da er darüber nichts mitteilt. Ferner sagt er ausdrücklich, daß eine Keimung bei seiner Versuchsanordnung mindestens 8 Tage dauert. Nun vollenden aber die Myxobakterien bei normaler Temperatur auf dem natürlichen Substrat in ihren ganzen Entwicklungsgang in 5—8 Tagen, bei höherer Temperatur, wie sie an heißen Sommertagen herrscht, innerhalb 2—4 Tagen. Wie könnte dies wohl möglich sein, wenn allein die Keimung schon mindestens 8 Tage dauern sollte? Alle diese Gründe sprechen wohl dafür, daß eine Keimung, wie sie Thaxter beschreibt, als ein abnormer Vorgang zu betrachten ist, und die Regel ein einfaches Auswachsen der Sporen zu Stäbchen ist.

b) Nährböden.

Häufig konnten die Myxobakterien gezüchtet werden, indem ich sie von Zeit zu Zeit auf dem Substrat, auf welchem sie gekommen waren, also besonders auf Mist, weiterimpfte. Es lag nahe, auch den Mist nach der Sterilisation als Nährboden zu benutzen. Jedoch wurden mit angefeuchtetem, sterilisiertem Mist nur bei wenigen mit besonderer Intensität wachsenden Formen Erfolge erzielt; die meisten wuchsen nicht recht auf diesem Substrat. Welchem Umstande dies zuzuschreiben ist weiß ich nicht. Ein etwaiger Zerfall der Nährstoffe durch die höhere Temperatur ist wohl nicht die Ursache; dies zeigt das lebhaftes Wachstum der meisten Myxobakterien auf Mistagar, der ebenfalls zur Sterilisation auf über 100° erhitzt werden mußte. Dieser Nährboden, der für die Züchtung hauptsächlich benutzt wurde, wurde durch Abkochung von frischem Kaninchenmist und Zusatz von 2 Proz. Agar-Agar hergestellt. Das Wachstum ist bei nicht zu hoher Temperatur durchaus regelmäßig. Ein Stamm wurde auf diese Weise über 1 Jahr fortgezüchtet, ohne daß er degenerierte. Jedoch sind diese Nährböden nur wenige Wochen brauchbar. Nach längerem Aufbewahren wachsen die Bakterien auf dem Agar nicht mehr. Ob nun diese Veränderung auf Absorption von schädlichen Gasen aus der Luft des Laboratoriums beruht oder ob sie andere Ursachen hat, ist mir nicht bekannt. Auf Gelatinenährböden, z. B. Malzextrakt + 15 Proz. Gelatine zeigte sich bei $18-20^{\circ}$ sehr langsames Wachstum unter gleichzeitiger, allmählicher Verflüssigung des Substrats. Nach 3—4 Tagen war der Nährboden zum größten Teile verflüssigt, während die Bakterien gewöhnlich nur eine kleine, tellerförmige, farblose Kolonie bildeten, die in der Flüssigkeit schwamm und weder Sporen noch Fruchtkörper produziert hatte. Natürlich wurde hier ebenso wie bei den übrigen Versuchen nur mit Reinkulturen gearbeitet.

Als ausgezeichnete Nährboden für die Kultur unserer Myxobakterien erwies sich, wie auch schon Thaxter bemerkt, ein Nähragar, der durch Abkochung von Kartoffeln hergestellt war. Das Wachstum auf diesem Substrat ist gegenüber dem auf Mistagar erheblich schneller und intensiver. So bildete ein Stamm von *Rubescens* darauf schon nach 2 Tagen bei 30° die ersten Fruchtkörper, während auf Mistagar mindestens 4—5 Tage dazu nötig sind. Ferner sind die Fruchtkörper zahlreicher und, was besonders auffällt, die Farbbildung ist eine sehr intensive, eine Erscheinung, die ja auch schon bei der Kultur anderer Pigmentbakterien beobachtet worden ist. Noch stärker als *M. rubescens* wird *Polyangium fuscum* auf diesem Nährboden beeinflusst; hier treten sogar Veränderungen der Bildung der Fruchtkörper auf. Leider war dies Substrat nur für völlig reine Myxobakterienkulturen verwendbar, denn auch die übrigen Bakterien, die etwa als Verunreinigungen vorhanden waren, wuchsen auf ihm sehr reichlich, so daß sie oft die Myxobakterien überwucherten. Für die Reinzüchtung war dieser Nährboden daher nicht zu gebrauchen und fand auch im übrigen nur beschränkte Verwendung.

Auf sterilisierten Kartoffelscheiben, wie sie vielfach verwandt werden, habe ich kein Wachstum der Myxobakterien erzielt, ebenso wenig auf Möhrenscheiben oder Möhrenagar. Dagegen wachsen die Bakterien leicht auf Kohlstrunkagar, und zwar ähnlich wie auf Kartoffelagar. Ich versuchte dann die Myxobakterien auf künstlichen Nährböden zu kultivieren. Bei Zusatz der gewöhnlichen anorganischen Salze erhielt ich lebhaftes

Wachstum jedoch nur mit Pepton (Witte) als N-Quelle; mit Asparagin zeigte sich ganz schwaches Wachstum; die niedriger organisierten N-Verbindungen, weinsaures Ammon, Ammoniumkarbonat etc. genügen überhaupt nicht mehr.

Als Kohlenstoffquelle kann den Myxobakterien ebenfalls Pepton dienen, da ein Agar, der nur Pepton und die organischen Salze enthält, schon allein kräftiges Wachstum ermöglicht. Ein Zusatz von Dextrose bewirkt dabei keine erhebliche Veränderung mehr. Meist ist nur die Farbe der Fruchtkörper etwas heller, tritt jedoch beim Stehen wieder hervor.

c) Formative Beeinflussungen durch Nährböden.

Auf allen Nährböden, die Pepton enthalten, verhalten sich die Myxobakterien ganz eigentümlich. Ein geringer Zusatz von Pepton, etwa $\frac{1}{2}$ Proz., zu Mistagar ergibt ein erheblich kräftigeres Wachstum mit regelmäßiger Bildung der Fruchtkörper. Bei höherer Konzentration, ca. 1—3 Proz., bilden die *M. rubescens*-Rassen anstatt des Schwarmes und der einzeln über diesen verstreuten Fruchtkörper eine zuerst hellrötliche, ziemlich gleichmäßig dicke Haut, die nur aus Stäbchen besteht. Letztere sind oft bis auf 20—40 μ verlängert bei nur 0,4—0,6 μ Breite. Nach einigen Wochen färbt sich die Masse häufig etwas dunkler; Sporen oder Fruchtkörper werden jedoch nicht mehr gebildet. Aehnliche Veränderungen werden durch Pepton auch bei den anderen Myxokokken hervorgebracht. Bei *M. virescens* z. B. wird schon durch geringe Mengen Pepton die Sporen- und Fruchtkörperbildung unterdrückt; es entsteht anstatt des farblosen Schleimes ein kräftiggelber Belag auf der Oberfläche des Agars, welcher nur aus Stäbchen von 25—40 μ Länge besteht.

Von den höher organisierten Myxobakterien habe ich das Verhalten von *Polyangium fuscum* in Bezug auf diese formativen Veränderungen untersucht. Es zeigte sich dabei, daß dieses einer Beeinflussung noch leichter zugänglich ist als die Myxokokken. Schon bei der Kultur auf Kartoffelagar bildete sich an Stelle des regelmäßigen, farblosen Schwarmes eine abnorm dicke sehr zähe weißliche Haut, die zum größten Teil aus Stäbchen bestand. Die Ausbildung der regelmäßigen Fruchtkörper wurde stark verzögert. Bei manchen Kulturen kam es überhaupt nicht zur Bildung von einzelnen Cysten. Auf Peptonnährböden breitete sich der Schwarm nur sehr wenig aus, wuchs dann in die Höhe und bildete schließlich eine unförmliche zähgallertartige, rosafarbene bis rote Masse, die $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ cm hoch war und sich 1—2 cm auf dem Substrat ausgebreitet hatte. Sie bestand aus Stäbchen, die sich teilweise erheblich über das gewöhnliche Maß hinaus verlängert hatten. Nach einigen Wochen sah man, daß sich die Bakterien unter allmählicher Verkürzung so anordneten, daß sie darmartig ineinander gewundene Wülste bildeten, wie sie ja auch als erste Anlage der normal entstehenden Fruchtkörper zu beobachten sind. Eine weitere Entwicklung dieser unförmlichen Stäbchenmasse fand jedoch nicht statt. Nach 1—2 Monaten zerfloß sie unter Zerfall der Stäbchen, ohne reguläre Cysten gebildet zu haben.

Bei der Kultur der Myxobakterien, insbesondere der Myxokokken, fällt dem Betrachter bald die regelmäßige Verteilung der Fruchtkörper auf der Oberfläche des Nähragars auf. Impft man einen *Myxococcus* in eine Petri-Schale an eine einzige Stelle, so breitet sich von diesem Punkte aus der Schwarm gleichmäßig nach allen Richtungen auf dem

Substrat aus. Nach einigen Tagen beobachtet man dann, daß etwa auf dem halben Radius des kreisförmigen Schwarmes ein Ring von zahlreichen kleinen Fruchtkörpern angelegt wird; beim weiteren Wachstum entstehen um diesen ersten eine größere Anzahl von weiteren konzentrischen Ringen und zwar immer so, daß der letzte äußerste, der die anderen umfaßt, ein Stück hinter dem Rande des weiterwachsenden Schwarmes liegt. (Vergl. Fig. 2.)

Auf dem natürlichen Substrat, Mist etc., liegen die Fruchtkörper meist unregelmäßig zerstreut. Es ist dies leicht verständlich: im Agar ist die Nahrung überall gleichmäßig verteilt, die Bakterien vermehren sich daher nach allen Richtungen auf der Oberfläche gleichmäßig schnell; auf dem Mist dagegen wird die Nahrung an verschiedenen Stellen verschieden sein, daher auch die Ausbreitung des Schwarmes und die Verteilung der Fruchtkörper.

d) Temperatur.

Die untere Grenze der Temperatur für das Wachstum der Myxokokken schwankt zwischen 17 und 20°. Bei den einzelnen Rassen, die ich in Reinkultur hatte, zeigten sich dabei kleine Unterschiede insofern, als sehr gut wachsende Sippen, so die meisten Myxokokken und *P. fuscum*, noch bei Temperaturen wuchsen, bei welchen schwächere überhaupt nicht mehr zur Keimung kamen. Je nach der Güte des Nährbodens schwankt ferner das Minimum innerhalb weniger Grade. Auf Pepton- oder Kartoffelagar findet lebhaftes Wachstum und Fruchtkörperbildung statt bei Temperaturen, bei welchen dieselben Sippen auf Mistagar oder Mist nicht mehr wachsen.

Die Dauer des Wachstums bis zur Ausbildung der ersten Fruchtkörper beträgt auf dem natürlichen Substrat unter sonst günstigen Bedingungen bei den Myxokokken meist 7—10 Tage, bei manchen langsam wachsenden *Chondromyces*-Arten 3—5 Wochen. Auf Kartoffelagar entwickelten sich die Fruchtkörper meist schneller.

Mit steigender Temperatur wird das Wachstum der Myxobakterien intensiver und erreicht seinen Höhepunkt etwa bei 35°. Bei dieser Temperatur bildeten einzelne Rassen schon nach 3—4 Tagen die ersten Fruchtkörper, andere bei 36° schon nach 2 Tagen. Doch macht sich neben dieser Beschleunigung des Wachstums auch eine Beeinflussung der Fruchtkörper- wie auch der Pigmentbildung bemerkbar.

Bei noch höherer Temperatur wird das Wachstum schnell herabgesetzt, und schon bei 39° wachsen nur noch wenige Sippen, und auch diese nur sehr schwach; über 40° wuchsen Myxobakterien überhaupt nicht mehr.

Bei niedrigerer Temperatur sind die auf dem Mistagar erzeugten Fruchtkörper normal. Die Sporenhäufchen der Myxokokken z. B. sind kugelig und sitzen nur mit einem geringen Teil ihrer Oberfläche dem Substrat auf. Mit wachsender Temperatur beginnen die Fruchtkörper immer breiter der Unterlage aufzusitzen, ferner flachen sie sich ab, so daß sie halbkugelig und schließlich sogar wie flache Kleckse aussehen. Eine vollständige Unterdrückung der Sporen- und Fruchtkörperbildung läßt sich jedoch durch höhere Temperatur nicht erzielen. Dagegen ist es mir durch längeres Züchten bei der abnorm hohen Temperatur von 37° gelungen, eine Rasse so zu beeinflussen, daß die Fruchtkörper auf dem Schwarm nur noch als ganz flache, kaum unterscheidbare Sporenhäufchen angelegt wurden. Bei Zurückversetzen unter normalen Be-

dingungen trat die regelmäßige Ausbildung der Fruchtkörper nur ganz allmählich im Laufe mehrerer Generationen auf. Man wird daher wohl mit Grund annehmen können, daß eine lang andauernde Züchtung unter so veränderten Bedingungen auch eine relativ dauernde Veränderung der Eigenschaften hervorrufen würde.

Ebenso wie die Fruchtkörperbildung wird auch die Pigmentproduktion unserer Bakterien durch höhere Temperatur beeinflusst, wie das ja auch für andere Farbstoff erzeugende Bakterien bekannt ist. Die einzelnen *Myxococcus*-Sippen, die ich in Kultur hatte, zeigten in Bezug auf Empfindlichkeit gegenüber der Temperatur erhebliche Abweichungen, wie schon oben erwähnt. Man beobachtete jedoch allgemein, daß durch höhere Temperatur eine Schwächung der Pigmentbildung eintrat. Schon bei 25–30° wurden einzelne hellrosa Rassen farblos, andere wurden in ihrer Farbbildung erst bei 30–35° geschwächt. Kräftig pigmentierte Rassen wurden dagegen überhaupt nicht merklich durch die extreme Temperatur beeinflusst; sie bildeten noch Pigment bei 37–39°, wobei schon das vegetative Wachstum eingeschränkt wird.

Die Farbstoffproduktion trat wieder auf, wenn Kulturen, die bei 30° farblos gewachsen waren, in Zimmertemperatur gebracht wurden. Der Schwarm wuchs dann weiter, und die von jetzt an gebildeten Fruchtkörper wurden rosa; die einmal farblos angelegten Sporenhäufchen dagegen blieben farblos. Rassen, die längere Zeit bei höherer Temperatur kultiviert waren, nahmen die Farbstoffherzeugung erst nach mehreren Generationen wieder auf. Ziemlich schnell wurde das Pigment auf Kartoffelagar wieder erzeugt.

e) Die Entwicklung des Cystophors.

Eine sehr interessante und wichtige Erscheinung in der Entwicklung zahlreicher Myxobakterien ist die Bildung des Cystenträgers oder „Cystophors“. Thaxter hat ja sogar die Bildung eines mehr oder weniger langen, einfachen oder verzweigten Cystophors, an welchem die der Verbreitung dienenden Cysten gebildet werden, mit zur Charakteristik der Gattung *Chondromyces* benutzt. Es fragte sich, auf welche Weise dieser Stiel zustande kommt. Man bemerkt zwar häufig, daß Schwärme von Stiel bildenden Arten auf irgend eine hervorragende Spitze, kleine Strohalmstückchen etc. kriechen, an deren äußerstem Ende sie Cysten bilden, die dann keinen weiteren Stiel besitzen. Die Regel ist jedoch, daß das Cystophor von den Bakterien selbst und ohne Zuhilfenahme fremder Gegenstände gebildet wird. Als geeignetes Objekt für die Untersuchung erwies sich *Ch. apiculatus* Th., der bis zu 1 mm hohe dabei sehr dünne Stiele bildet.

Die Species wurde auf Kaninchenmist ausgesät. Nach 8–10 Tagen hatte sich der vegetative Schwarm über einen Teil des Substrates ausgebreitet und begann eine große Zahl von Fruchtkörpern zu produzieren. Da diese in den verschiedensten Stadien der Entwicklung standen, so ließ sich aus dem Vergleich der einzelnen Formen ein Bild von der Entstehung des Fruchtkörpers und Cystophors machen. Auch direkt konnte ich an einem und demselben Fruchtkörper diesen Vorgang verfolgen, indem ich diesen während seiner Entwicklung auf dem Substrat von Zeit zu Zeit mit dem Präpariermikroskop beobachtete. Danach stellt sich der Vorgang folgendermaßen dar: Als erste Anlage erscheint ein rundliches Häufchen von Bakterien, das anfangs dem Substrat breit aufsitzt. Allmählich rundet es sich zu einer kugeligen Masse ab, wobei

der dem Substrat aufsitzende Teil sich verschmälert (Fig. 3a), so daß diese bald auf einem ganz kurzen Stielchen sitzen. In den folgenden Entwicklungsstadien verlängert sich der Stiel, so daß die Stäbchenmasse immer höher über das Substrat emporgehoben wird (Fig. 3b). Wenn das Cystophor seine definitive Länge erreicht hat, werden die Cysten aus der kugeligen Stäbchenmasse als blasige Ausstülpungen angelegt (Fig. 3c), nehmen dann Spindelform an und gehen schließlich in die für *Ch. apiculatus* charakteristische Kugelgestalt mit den beiden Anhängseln über. Darauf untersuchte ich die einzelnen Stadien genauer. Das dem Substrat noch ohne Stiel aufsitzende Stäbchenhäufchen besteht aus einer kompakten Masse von verkürzten Bakterien ohne Membran um das Ganze. Durch Druck auf das Deckglas des Präparates weicht die Masse nach allen Seiten gleichmäßig auseinander. Bei älteren Stadien, die schon einen kurzen Stiel gebildet haben, weicht ebenfalls die Masse leicht an der Stelle auseinander, welche dem Stiel gegenüberliegt. In der Nähe dieses Stieles ist jedoch die Masse fester, sie wird hier, wie man bei noch stärkerem Quetschen des Präparates erkennt, von einer die Kugel umgebenden farblosen konsistenten Membran zusammengehalten. Diese aus verhärtetem Schleim bestehende Haut fehlt am apikalen Ende des Köpfchens; sie beginnt an der Seite und erlangt gegen den Stiel zu, in welchen sie kontinuierlich übergeht, eine immer größere Festigkeit. Sie besitzt eine deutlich erkennbare Streifung in Richtung des Stieles, die oben sehr schwach beginnt und stärker werdend sich in den Stiel fortsetzt, wie das Fig. 3b zeigt.

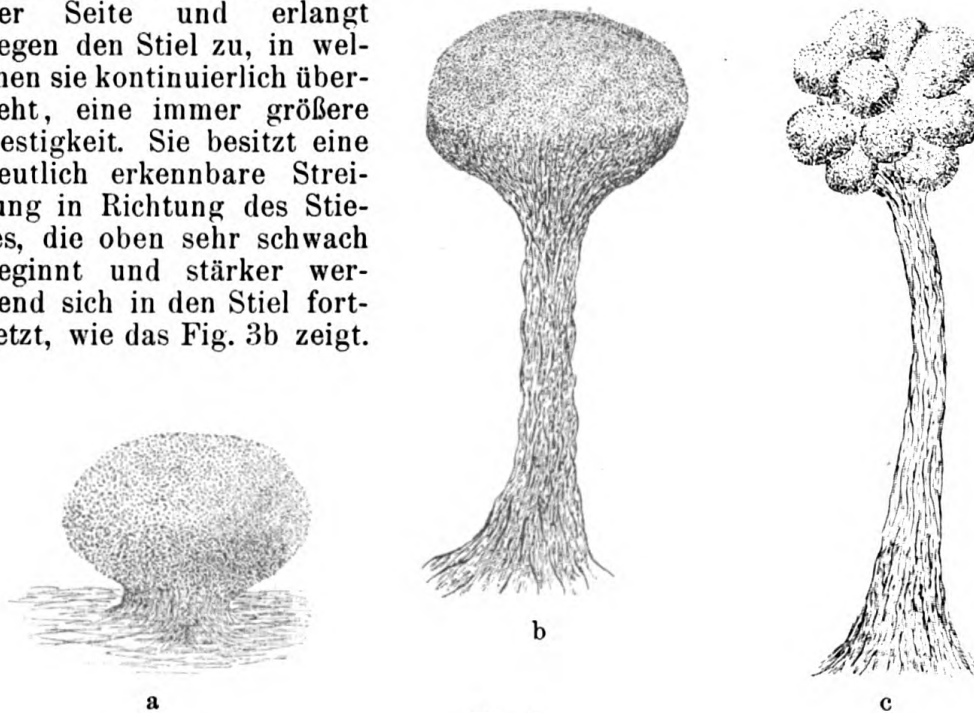


Fig. 3.

Auf Querschnitten, die ich mit Hilfe des Mikrotoms aus eingebetteten Fruchtkörpern hergestellt habe, gibt sich diese Streifung als Einfaltung der Membran zu erkennen. Der Inhalt des Stieles war, wie Querschnitte durch die Stiele von Fruchtkörpern, die noch in der Entwicklung begriffen waren, lehrten, eine farblose Masse, welche sich mit Gentianaviolett nur sehr schwach färbte. Im Gegensatz dazu nahm der Inhalt der Cysten, der bei reifen Fruchtkörpern ja aus Bakterien besteht, die Farbe sehr stark an. Ich schloß daraus, daß der Inhalt des Stieles nicht aus Bakterien besteht; wahrscheinlich besteht er aus dem Schleim von diesen, den die Bakterien ja während ihres ganzen Lebens produzieren.

Auf allen Stadien der Stielbildung findet sich dasselbe Bild wie Fig. 2b, indem immer die Membran seitlich an der Stäbchenmasse sich ausbildet, dann nach unten zu stärker wird und sich mit zunehmender Einfaltung in den Stiel fortsetzt.

Man wird daher mit Sicherheit annehmen können, daß die Erhebung der Stäbchenmasse und damit die Ausbildung des Cystophors so zu stande kommt, daß die austrocknende Membran sich auf der Unterseite der Stäbchenkugel zusammenzieht und dadurch die Masse nach oben drängt. Während sie sich an der Seite immer neu bildet, wird sie unten zum Aufbau des Stieles verwandt. Dadurch ist auch die nach der Basis zunehmende Einfaltung erklärt. Denn je mehr die Membran nach unten rückt, um so mehr muß sie sich wegen des kleiner werdenden Querschnittes in Falten legen. Die Membran ist es auch, welche durch ihre relativ große Konsistenz, die noch durch die Einfaltung erhöht wird, die Festigkeit des Cystophors bedingt. Wie schon gesagt, besteht der Stiel aus Schleim und nicht aus dem Bakterienchwarm. Auch jüngere Stadien ließen keinen Schwarm im Stengelinnern erkennen. Es findet also kein Durchkriechen der Bakterien statt, sondern die ganze Stäbchenmasse ist zu Beginn der Fruchtkörperbildung zu einem kugeligen Haufen vereint; dann wird an der Außenseite die Membran gebildet; diese zieht sich, unten anfangend, zusammen und hebt dadurch das Bakterienhäufchen empor; der Schleim, der dabei von den Bakterien gebildet wird, bleibt als Inhalt des Stiels zurück. Dagegen können einzelne Bakterien in dem Schleim zurückbleiben, ebenso wie auch in dem Schleim des vegetativen Schwarmes eine Anzahl Bakterien sich noch finden, wenn die Hauptmenge zur Fruchtkörperbildung an bestimmte Stellen wandert.

Interessant ist, daß die hier beschriebene Entwicklung des Cystophors der Myxobakterien ganz ähnlich verläuft wie die Entwicklung des Sporangiumträgers mancher Myxomyceten, wie sie z. B. Jahn¹⁾ für *Dictydium* schildert. Der aus zahlreichen Bakterien bestehende Schwarm verhält sich dabei ebenso wie das einzelne Plasmodium.

Die Bildung der Anhängsel, die bei den reifen Cysten von *Ch. apiculatus* vorhanden sind, ist in ihrer Entstehung leicht zu verfolgen. Sobald die Cysten sich spindelförmig angelegt haben, differenziert sich an der gesamten Oberfläche eine festere, allmählich gelbrot werdende Membran. Dann beginnt der Inhalt zu schrumpfen, zieht sich besonders nach der Mitte hin; dadurch werden die Cysten an den beiden Enden ganz leer, weshalb dort die Membran kollabiert. So entsteht schließlich die kugelige Cyste mit den beiden Anhängseln.

Betrachtet man eine größere Anzahl von normal auf dem Substrat gewachsenen Fruchtkörpern des *Apiculatus*, so findet man, daß meist der Stiel in eine ziemlich dünne Spitze ausläuft, an welcher in mehr oder weniger großer Anzahl die Cysten befestigt sind. Bei einigen Stielen macht man aber die Beobachtung, daß sie am Ende eine blasige Anschwellung besitzen, welche ebenso wie die Cysten mit Stäbchen gefüllt ist. Wie ist nun diese Abweichung zu erklären? Wie schon oben gesagt, werden die Cysten aus der ursprünglich vorhandenen kugeligen Stäbchenmasse als blasige Ausstülpungen hervorgetrieben. Natürlich muß sich dabei die Stäbchenmasse, indem sie das Material für die Cysten hergibt, entsprechend verkleinern. In normalem Falle verschwindet sie ganz, indem die Bakterien zur Bildung der Cysten verbraucht werden.

1) Jahn, E., Myxomycetenstudien (1. Ber. d. d. Botan. Ges. Bd. XIX. 1901. p. 97 ff.).

Zuweilen aber bleibt eine gewisse Menge an der Spitze des Stieles unverbraucht und bildet dann die Anschwellung. Dies wird besonders dann auftreten, wenn die Stäbchenmasse sehr groß ist, so daß auch nach normaler Anlage der Cysten noch Material zu weiterem Aufbau übrig ist. Dieses bleibt in solchen Fällen in der kugeligen Verdickung am Stielende zurück. Häufig beobachtet man dieses Verhalten bei den Fruchtkörpern, die auf Agar gewachsen sind. Auf diesem Substrat hat sich eben der Schwarm relativ stark vermehrt, so daß die Bakterien zum Aufbau der Cysten in übergroßer Menge vorhanden sind.

Aehnlich wird man eine andere Erscheinung aufzufassen haben, der ich verschiedene Male bei den auf Agar gewachsenen Fruchtkörpern des *Ch. apiculatus* begegnete. Ich beobachtete bei diesen nämlich ein „Durchwachsen“ des Cystenträgers, verbunden mit der Entwicklung eines zweiten Köpfchens von Cysten. Zuweilen wiederholte sich dies noch einmal, so daß an einem Stiel etagenartig 3—4 Köpfchen von Cysten übereinander gebildet wurden. Auch hier hat sich der Schwarm auf Agar so stark vermehrt, daß er zur Bildung eines Cystenköpfchens nur zum Teil verbraucht werden konnte. Der Rest hat dann auf dem ersten Fruchtkörper einen zweiten, resp. dritten produziert.

Die Untersuchungen wurden im Botanischen Institut der Universität Berlin ausgeführt, dessen Hilfsmittel mir von Herrn Geheimrat Schwendener in liebenswürdigster Weise zur Verfügung gestellt worden waren. Für die Anregung zu der Arbeit, für die Ueberlassung von Material sowie für mannigfache Unterstützung während ihrer Ausführung möchte ich auch an dieser Stelle Herrn Privatdozenten Dr. Baur meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Tafelerklärung.

Um weiteren Kreisen eine Anschauung von den bisher so wenig beachteten Myxobakterien zu geben, habe ich eine größere Anzahl von Habitusbildern verschiedener Formen zusammengestellt. Für ihre prächtige Ausführung bin ich Herrn stud. rer. nat. R. Ehrlich, der sie nach der Natur gemalt hat, zu großem Danke verpflichtet.

- Fig. 1. *Myxococcus digitatus* Quehl 1:120.
- Fig. 2. *Polyangium solediatum* Thaxter 1:150.
- Fig. 3. Einzelne Cysten von *P. solediatum* 1:450.
- Fig. 4. *Chondromyces erectus* (Schröter) Zukal 1:100.
- Fig. 5. *Polyangium primigenium* Quehl 1:40.
- Fig. 6. *Chondromyces lichenicolus* Thaxter 1:270.
- Fig. 7. *Chondromyces serpens* Thaxter 1:40.
- Fig. 8. *Polyangium fuscum* (Schröter) Zukal 1:80.
- Fig. 9. *Myxococcus clavatus* Quehl 1:50.
- Fig. 10. *Chondromyces crocatus* Berkeley und Curtis 1:170.
- Fig. 11. Einzelne Cysten von *Ch. crocatus* 1:250.
- Fig. 12. *Chondromyces gracilipes* Thaxter 1:300.
- Fig. 13. *Chondromyces apiculatus* Thaxter 1:200.
- Fig. 14. Junge Cyste von *Ch. apiculatus* 1:200.
- Fig. 15. Abnormer Fruchtkörper von *Ch. apiculatus*, auf Mistagar gewachsen 1:200.
- Fig. 16. *Polyangium fuscum*, auf Kaninchenmist 1:15.



Nachdruck verboten.

Weitere Beiträge zur Kenntnis unserer Obstweihen.

Von Dr. A. Osterwalder,

Assistent an der Schweiz. Versuchsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau
in Wädensweil.

Mit 1 Tafel.

Mit Eröffnung der Versuchsanstalt in Wädensweil im Jahre 1891 wurde durch Prof. Dr. Müller-Thurgau als eine Hauptaufgabe die Heranzucht und Prüfung der in Obst- und Traubenweihen vorkommenden Heferasen in Angriff genommen. Während nun diese Untersuchungen, über welche sich Mitteilungen namentlich in den 12 Jahresberichten der Anstalt finden, hinsichtlich der Traubenweihen zu einem gewissen Abschlusse gelangt sind und neben den wissenschaftlichen Resultaten zu einer schon ziemlich ausgiebigen Anwendung von Reinhefen im praktischen Weinbaubetrieb der Schweiz geführt haben, stellten sich der Verwendung von Obstweihen größere Schwierigkeiten entgegen. Die Anwendung der besten von der Versuchsanstalt gezüchteten Weißwein- und Rotweihen ergab in Obstweihen wohl einen günstigeren Gärverlauf; allein die geschmacklichen Eigenschaften des Getränkes, sowie seine Frische und Haltbarkeit wurden, wenigstens in den Birnweihen, dadurch nicht immer in gewünschter Weise gefördert¹⁾. Die Gärung der Obstweihen durch Anwendung von Reinhefen vervollkommen zu können, dürfte von der Heranzucht besonderer Obstweihen erwartet werden. Zu diesem Behufe wurden eine größere Anzahl von Hefearten aus Apfel- und Birnweihen gezüchtet und nach exakten Methoden allseitig untersucht. Im Nachstehenden sind vorläufig nur jene Ergebnisse mitgeteilt, die eine Untersuchung und nähere Charakterisierung der Hefearten gestatten. In einer weiteren Mitteilung wird noch näher auf die schon aus den nachfolgenden Tabellen hervorgehende Beeinflussung der chemischen Zusammensetzung der Obstweihen durch die Hefearten und sodann auch auf das Zusammenwirken der Reinhefe mit den schon im Obstwein vorhandenen Hefen und sonstigen Organismen eingetreten werden. Schon in einer im „Landwirtschaftl. Jahrbuch der Schweiz“²⁾ (1903) erschienenen Abhandlung haben wir uns eingehend mit dem Studium einzelner aus Trauben- und Obstsaften gewonnenen Hefen beschäftigt, wobei wir im großen und ganzen den Weg eingeschlagen, den Hansen bei seinen bekannten Untersuchungen über einzelne Alkoholgärungspilze, wie *Sacch. cerevisiae* I Hansen, *Saccharomyces Pastorianus* I. Hansen etc. gewählt hatte. Insbesondere suchten wir die gärkräftigeren Hefen, die bei der Trauben- und Obstweingärung eine wichtige Rolle spielen, durch das Studium ihrer Bodensatzformen, der Sporenbildung, der Impfstreichkulturen und Riesenkolonien so gut als möglich zu charakterisieren, wobei es uns gelungen ist, zwischen einzelnen Hefen deutliche Unterscheidungsmerkmale zu konstatieren, die sich, gleiche Lebensbedingungen vorausgesetzt, als konstant erwiesen und infolgedessen verwertbar sind bei der Diagnose dieser Hefearten. So konnten wir dann am Schluß unserer Mitteilung die Ergebnisse der

1) Müller-Thurgau, Heranzucht und Prüfung von Obstweihen. (X.—XII. Jahresbericht der deutschschweizerischen Versuchsstation und Schule für Obst-, Wein- und Gartenbau in Wädensweil, p. 85.)

2) Vergleiche ein Referat hierüber in diesem Centralblatt Bd. XII. 1904. p. 486.

Untersuchung zusammenfassen wie folgt: Aehnlich wie die *Sacch. Pastorianus*-Arten von Hansen in morphologischer Hinsicht verhalten sich die Weinhefe Erbach, die Obstweihenfen Hutzenwil, Engishofen, Egnach, Malter und Wädensweil, wobei Erbach eine Art, Hutzenwil, Engishofen, Egnach und Malter eine zweite Art und Wädensweil eine dritte Art bilden. Aehnlich wie *Sacch. ellipsoideus* I oder II Hansen in morphologischer Richtung verhalten sich die Weinhefen Ay und Champagne (1. Art), die Weinhefe Steinberg (2. Art), die Obstweihene Meggen (3. Art), die Weinhefe Aßmannshausen (4. Art) und die Obstweihene Bießenhofen (5. Art). Es stellte sich also heraus, daß die Mehrzahl der Obstweihenfen sich wie *Sacch. Pastorianus* Hansen verhielten, die Mehrzahl der Traubenweihenfen dagegen wie *Sacch. ellipsoideus* Hansen. Das gärungsphysiologische Verhalten wurde außer acht gelassen. Wir werden in dieser Mitteilung darauf zurückkommen, und zur Vervollständigung der Charakteristik der Obstweihenfen auch auf ihr Verhalten bei der Obstweingärung näher eintreten.

Es erschien nun zweckmäßig, um einen genaueren Einblick in die Systematik der Obstweihenfen zu gewinnen, noch eine weitere Anzahl von Hefen in den Kreis unserer Untersuchungen einzubeziehen. Traubenweihenfen haben wir diesmal mit Rücksicht auf die größere Zahl der neugezüchteten Obstweihenfen nicht zum vergleichenden Studium herangezogen. Das Material wurde wieder auf dieselbe Weise wie bei den früheren Untersuchungen gewonnen; sämtliche Hefen wurden aus dem Kanton Thurgau bezogen, zum Teil aus den nämlichen Gegenden wie früher, zum Teil von anderen Orten. Im ganzen liefen 17 verschiedene mit Obstsaft gefüllte Fläschchen ein, aus denen wir während und nach der Hauptgärung die Hefen in Plattenkulturen züchteten, um dann später mittelst der Tröpfchenkultur einzelne Hefezellen zu isolieren. Aus den Reinkulturen der verschiedenen Hefearten, die zunächst auf ihre Gärkraft geprüft wurden, wählten wir sodann folgende gärkräftige Hefen:

Engishofen 1, aus Saft von Bießenhofer Holzbirnen,
 Bußnang, aus Saft von Witfelder- oder Häberlibirnen,
 Altnau, aus Saft von Wasser- und etwas Moggenholzbirnen,
 Weinfeld, aus Saft von Guntershausener Mostbirnen,
 Tägerweilen, aus Wasserbirnensaft,
 Altnau 1, aus Uttwiler Aepfelsaft,
 Sulgen, aus Gelbmöstlersaft,
 Engishofen 2, aus Saft von Champagner Bratbirnen,
 Tägerweilen 1, aus Taffertäpfelsaft,
 Sulgen 1, aus Marxenäpfelsaft,
 Egnach 1, aus Herbstgütlersaft; ferner eine weniger kräftige Hefe:
 Bischofszell, aus Nägeliäpfelsaft,

Als Nährmedien dienten wiederum Teilersbirnensaft, sizilianischer Traubensaft, 15-proz. Gelatine + 7 Proz. Teilersbirnensaft resp. 7 Proz. sizilianischer Traubensaft.

Was nun zunächst die Bodensatzformen anbetrifft, so untersuchten wir dieselben in Trauben- und Teilersbirnensaft, und zwar jeweils ca. 8—14 Tage nach der Aussaat, also noch während der Hauptgärung, oder wenige Tage nach derselben, zu einer Zeit, wo Hautbildungen noch nicht möglich waren. Wie bei den früheren Versuchen, konnten auch diesmal wieder zwei Gruppen hinsichtlich der Gestalt der

Hefezellen im Teilersbirnensaft unterschieden werden: Solche Hefen, die elliptische und keulenförmige Zellen zu bilden im stande sind, (und solche, die nur elliptische Zellen erzeugen), also wieder Vertreter des pastorianen und des elliptischen Typus. Wie die Sacch. Pastorianus-Arten von Hansen in morphologischer Hinsicht verhalten sich: Engishofen 1, Bußnang, Altnau, Weinfeldern, Tägerweilen, Altnau 1, Sulgen, Engishofen 2, Sulgen 1 und Egnach 1; wie die Sacch. ellipsoideus-Arten von Hansen nur Tägerweilen 1 und Bischofszell, welche letztere Hefe leicht an der Größe zu erkennen ist, indem die Zellen durchwegs kleiner sind als diejenigen von Sacch. ellipsoideus. Bei sämtlichen Hefen der ersten Gruppe überragt die Zahl der elliptischen Zellformen diejenigen der pastorianen Zellen; das genaue Mengenverhältnis zwischen beiden Formen aber jeweils festzustellen, ist unmöglich. Näheres kann folgendem Auszug aus dem Versuchsprotokoll entnommen werden. Wir verwendeten bei dem Versuch Fläschchen mit je 30 ccm Teilersbirnensaft, die, mit Watteverschluß versehen, bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurden. Die Hefeaussaat geschah am 27. Dezember 1904; die mikroskopische Prüfung des Bodensatzes, die kurz nach der Hauptgärung am 11. Januar 1905 vorgenommen wurde, ergab folgendes:

Engishofen 1: Elliptische Zellen; daneben sehr viele pastoriane Formen bis 31,72 μ Länge.

Bußnang: Elliptische Zellen von sehr verschiedener Größe; daneben pastoriane Formen, die nicht so zahlreich vertreten sind wie bei Engishofen 1. Maximallänge der pastorianen Hefen ca. 29,2 μ .

Altnau: Der Bodensatz ist ähnlich beschaffen wie bei Bußnang. Pastoriane Formen bis 36,6 μ Länge.

Weinfeldern: Elliptische Zellen von gleichartiger Beschaffenheit, die an die Hefe Champagne erinnern; daneben in geringer Zahl pastoriane Formen bis 34,1 μ Länge.

Tägerweilen: Elliptische Zellen; daneben viele pastoriane Formen bis 34,1 μ Länge.

Altnau 1: Elliptische Zellen; daneben nicht häufig pastoriane Formen bis 36,6 μ Länge.

Sulgen: Elliptische Zellen; daneben ziemlich häufig pastoriane Formen bis 36,6 μ Länge.

Engishofen 2: Der Bodensatz ist ähnlich beschaffen wie bei Sulgen; pastoriane Formen bis 34,1 μ Länge.

Tägerweilen 1: Nur elliptische Zellen von 2,44 μ Breite und 3,6 μ Länge bis 6,1 μ Breite und 8,5 μ Länge. Die Hefe erinnert durch ihre heterogene Zusammensetzung an Malters.

Sulgen 1: Elliptische Zellen; daneben viele pastoriane Formen bis 34,1 μ Länge.

Egnach 1: Elliptische Zellen, daneben nicht sehr zahlreich pastoriane Formen bis 34,1 μ Länge.

Bischofszell: Kleine elliptische Zellen; Maximallänge derselben: 5,49 μ ; Maximalbreite = 4,88 μ .

Bei der beschränkten Zahl von Hefezellen, die jeweils gemessen wurden, können die Längsmaße nur annähernd genau sein. Wenn es sodann ferner heißt „pastoriane Formen bis zur Länge von z. B. 34,1 μ “, so soll damit gesagt sein, daß von der Länge der elliptischen Zellen bis zur bezeichneten Grenze eine Reihe von Uebergangsformen vorhanden sind. In sizilianischem Traubensaft verschwinden noch die

wenigen Unterschiede, die sich im Teilerbirnensaft zwischen den einzelnen Hefen erkennen lassen, indem, wie wir früher schon gesehen haben, bei den Vertretern der pastorianen Gruppe pastoriane Formen gar nicht oder nur in ganz geringer Zahl auftreten. Bischofszell ist auch im Traubensaft an den kleinen elliptischen Zellen leicht zu erkennen.

Nach monatelangem Stehen bilden sich in den mit Wattebausch verschlossenen Fläschchen mit Teilersbirnen- oder Traubensaft keine Haut- oder Ringvegetationen; dagegen treten im Bodensatz, besonders im Traubensaft, jene typischen aus mycelialen Zellverbänden zusammengesetzten Flockenbildungen auf, die nach und nach bei ruhigem Stehen zu einer voluminösen dem Bodensatz direkt aufliegenden mehr oder weniger hohen Flockenschicht auswachsen. Das mikroskopische Bild dieser Flocken sowohl als auch ihr zeitliches Auftreten sprechen dafür, daß die Flockenbildung an Stelle der Hautvegetationen auftritt. Wir können sie auch als konstante Erscheinung bei der Diagnose der verschiedenen Hefen verwerten. Nach der Stärke der Flockenbildung geordnet, nehmen die verschiedenen Arten folgende Reihenfolge ein (Fläschchen mit sizilianischem Traubensaft vom 6. August 1904, untersucht am 11. Januar 1905):

Bußnang (Flockenschicht ca. 1 cm hoch), Engishofen 2 (Flockenschicht ca. $\frac{1}{2}$ cm), Tägerweilen (0,3 cm), Sulgen, Altnau, Egnach 1, Altnau 1, Engishofen 1, Sulgen 1, Weinfeld, Tägerweilen 1, Bischofszell. Bei Bischofszell ist der Bodensatz glatt und ohne Flocken; bei Tägerweilen 1 tritt ganz schwache Flockenbildung auf. Bei Altnau, Tägerweilen, Engishofen 2 und Egnach 1 fanden wir in einzelnen Zellen der Bodenflocken im sizilianischen Traubensaft Sporen.

Zur Herstellung der Strichkulturen diente 15-proz. Gelatine + 7 Proz. sizilianischer Traubensaft. Wie zu erwarten war, zeichneten sich die einen Impfstrichkulturen durch einen fein gefransten Rand und durch ein bürstenartiges Wachstum ins Innere der Gelatine aus, so sämtliche Vertreter der pastorianen Gruppe, während Bischofszell allein einen glatten Rand bildete und auch nicht ins Innere der Gelatine gewachsen war, sich in dieser Beziehung also verhielt wie die früher beschriebene Hefe Champagne. Bei einzelnen Hefearten, wie Altnau 1, Weinfeld und Engishofen 1, traten Fransenbildung und Wachstum in die Gelatine nicht in dem Maße auf wie bei den übrigen. Tägerweilen 1 war schwach gefranst, etwa wie Aßmannshausen der früheren Serie. Eine gewisse Übereinstimmung zwischen dem Wachstum auf Gelatine in Impfstrichkulturen und der Flockenbildung im vergorenen Traubensaft ist unverkennbar. Bei den Hefen mit starker Flockenbildung sind die Strichkulturen stark gefranst, während diejenigen mit geringerer Flockenbildung auch schwächere Fransenbildung aufweisen. Die flockenlose Hefe Bischofszell erzeugt einen glatten Rand und wächst nicht in die Gelatine hinein. Nach unseren bisherigen Beobachtungen vermögen sämtliche Vertreter der pastorianen Gruppe gefranste Ränder zu erzeugen, während von denjenigen Hefen, die, nach dem Bodensatz zu schließen, zu den elliptischen Hefearten gehören würden, nicht alle einen glatten Rand bilden, z. B. Aßmannshausen und Tägerweilen 1. Hinsichtlich der Verflüssigung der Gelatine durch die verschiedenen Hefen ergaben sich folgende Unterschiede: Von Strichkulturen, die am 21. November 1904 hergestellt und bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurden, hatte Sulgen 1 am 31. Dezember die unter dem Strich liegende Gelatineschicht verflüssigt. Am 16. Januar 1905 begannen zu verflüssigen: Altnau, Sulgen,

Engishofen 2, Tägerweilen 1. Am 30. Januar hatten sämtliche Hefen die unter dem Impfstich gelegene Gelatineschicht verflüssigt, mit Ausnahme von Weinfeldern, Altnau 1 und Bischofszell. Am 10. Februar zeigte sich nur noch die Hefe Bischofszell unverändert. Bei der makroskopischen Prüfung der Strichkulturen läßt sich also, wie aus der Beschreibung deutlich hervorgeht, nur Bischofszell mit Leichtigkeit erkennen, während man die einzelnen pastorianen Hefearten kaum identifizieren könnte. Die mikroskopische Durchsicht lieferte uns insofern noch weitere Merkmale zur Erkennung einzelner Hefen, als bei zwei Arten, Tägerweilen und Engishofen 2, sporenhaltige Zellen zu finden waren. Die Hefe Bischofszell fiel uns auf durch ihre homogene Zusammensetzung aus kleinen elliptischen Zellen, während alle anderen Hefen elliptische und pastoriane Zellen bis zur Länge von 36μ aufwiesen, die in ähnlichen mycelialen Verbänden auftraten, wie in der Bodenflokkenschicht.

Leichter als an den Strichkulturen sind die Hefearten an den Riesenkolonien oder Oberflächenkolonien zu erkennen. Wenn auch nicht geleugnet werden kann, daß geringe Verschiebungen in der Zusammensetzung der Nährgelatine eine Aenderung der Wachstumsformen zur Folge haben, so daß also Riesenkolonien auf verschiedener Nährgelatine nicht untereinander vergleichbar sind, so muß doch zugegeben werden, daß auf demselben Nährsubstrat gezüchtete Riesenkolonien bei der Unterscheidung der einzelnen Hefen gute Dienste leisten. Wir verzichten auf eine einläßliche Beschreibung der Kulturen ihrer großen Variationsfähigkeit wegen und verweisen auf die Abbildungen der ca. 9 Wochen alten Riesenkolonien. Zur Kontrolle zogen wir noch einige früher besprochene Hefen heran, wie Wädensweil, Meggen und Egnach; dabei ergab sich aber, daß diese Arten, wahrscheinlich der etwas veränderten Zusammensetzung der Nährgelatine wegen, sich ganz anders als früher verhielten, sodaß ein direkter Vergleich der heutigen Abbildungen mit den früher publizierten Figuren nicht angestellt werden kann. Wie die Strichkulturen, wachsen auch die Riesenkolonien mehr oder weniger tief in die Gelatine hinein und verflüssigen dieselben schließlich mit Ausnahme von Bischofszell, welche Hefe lange Zeit trocken bleibt und kein Tiefenwachstum zeigt. Die Riesenkolonien von Bußnang wiesen den größten Durchmesser (22 mm) auf; dann folgten Engishofen 2, Altnau 1, Altnau, Weinfeldern, Tägerweilen, Sulgen, Egnach 1, Engishofen 1, Bischofszell, Sulgen 1 und Tägerweilen 1 mit 12 mm Durchmesser. Bei der mikroskopischen Prüfung der Hefen aus den Riesenkolonien beobachteten wir in einzelnen Zellen von Altnau, Tägerweilen, Engishofen 2 und Egnach 1 Sporen.

Um die Hefen auf die Sporenbildung zu prüfen, wurden dieselben in ähnlicher Weise wie früher behandelt, indem sie einige Tage in Teilersbirnensaft gezüchtet und nach Erneuerung der teilweise vergorenen Flüssigkeit durch unvergorenen Saft 24 Stunden lang bei 25° aufbewahrt wurden. Nachdem wir die Flüssigkeit abgegossen hatten, brachten wir einen Teil des Hefebreies auf den Gipsblock, der im Thermostaten einer Temperatur von $24-25^{\circ}$ ausgesetzt wurde. Von sämtlichen Hefen bildeten Bußnang, Altnau, Tägerweilen, Sulgen, Engishofen 2 und Egnach 1 Sporen¹⁾, während alle übrigen sich asporogen

1) Mit Ausnahme von Bußnang und Sulgen sind es also diejenigen Hefen, bei denen wir früher schon, sei es in der Bodenflokkenschicht oder beim Wachstum auf Gelatine, Sporen beobachteten.

verhielten. Bei Bußnang, Altnau, Tägerweilen, Engishofen 2 und Egnach 1 traten in einzelnen Zellen schon innerhalb 15 Stunden Sporen auf. Am reichlichsten bildete Engishofen 2 Sporen, welche Hefe nach 4 Tagen ca. 80 Proz. sporenhaltige Zellen führte, während wir bei Sulgen deren ca. 50 Proz., bei Tägerweilen, Altnau, Bußnang und Egnach 1 ca. 60 bis 70 Proz. schätzten. In der Form, Größe und Zahl der Sporen konstatierten wir eine Uebereinstimmung mit den früher beschriebenen Hefen. Im Anschluß an die morphologischen Studien sollen noch zwei Gärversuche besprochen werden, wobei wir unser Augenmerk auf Gärverlauf, Vergärungsgrad, Bildung von Alkohol, Gesamtsäure, flüchtige Säure und Extrakt richteten.

Verwendet wurde 1) Teilersbirnensaft vom Herbst 1904, hergestellt aus frisch gesammelten reifen Teilersbirnen, der in 500 ccm Flaschen abgezogen (je 400 ccm pro Flasche) und bei 75° eine Stunde lang sterilisiert wurde. Die verschiedenen Hefearten wurden im sizilianischen Traubensaft herangezüchtet und 10 Tage nach der Aussaat zur Infektion verwendet, wobei wir jeweils 4 ccm Hefeflüssigkeit 400 ccm Saft zufügten. Ueber den Verlauf der Gärung orientiert uns zunächst

Tabelle
Kohlensäureverlust pro Flasche à

| Datum | Temp. | Stein- berg 1 | Wädens- weil | Engis- hofen 1 | Buß- nang | Altnau | Wein- felden |
|------------------------------|---------|------------------|-----------------|-------------------|--------------|--------|-----------------|
| 17. Sept. 2 Uhr | 17° | 0,41 | 0,56 | 0,77 | 0,11 | 0,41 | 0,68 |
| 18. " 9 " | 16 1/2° | 1,13 | 1,52 | 1,72 | 1,14 | 1,28 | 1,73 |
| 19. " 9 " | 15 1/2° | 1,43 | 2,17 | 1,70 | 1,83 | 1,77 | 1,87 |
| 20. " 9 " | 14 1/2° | 1,27 | 1,42 | 1,31 | 1,67 | 1,38 | 1,51 |
| 21. " 9 " | 14 1/2° | 1,23 | 1,27 | 1,20 | 1,39 | 1,26 | 1,36 |
| Vom 16.—21. Sept. | | 5,47 | 6,94 | 6,70 | 6,14 | 6,10 | 7,15 |
| 22. Sept. 9 Uhr | 14 1/2° | 0,98 | 0,96 | 0,91 | 1,11 | 1,03 | 1,10 |
| 23. " 9 " | 15° | 1,22 | 1,16 | 1,04 | 1,28 | 1,14 | 1,25 |
| 24. " 9 " | 15° | 1,15 | 0,94 | 0,90 | 1,05 | 1,03 | 1,11 |
| 26. " 9 " | 15° | 2,20 | 1,73 | 1,78 | 2,05 | 1,80 | 2,03 |
| Vom 16.—26. Sept. | | 11,02 | 11,73 | 11,33 | 11,63 | 11,10 | 12,64 |
| 27. Sept. 9 Uhr | 15° | 1,17 | 0,80 | 0,86 | 0,95 | 0,86 | 0,97 |
| 28. " 9 " | 16° | 1,08 | 0,73 | 0,77 | 0,80 | 0,83 | 0,87 |
| 29. " 9 " | 15 1/2° | 1,01 | 0,74 | 0,77 | 0,86 | 0,73 | 0,88 |
| 30. " 9 " | 15 1/2° | 1,06 | 0,75 | 0,78 | 0,74 | 0,70 | 0,78 |
| 1. Okt. 9 " | 15° | 0,97 | 0,68 | 0,78 | 0,70 | 0,75 | 0,74 |
| 3. " 9 " | 15° | 1,68 | 1,10 | 1,17 | 1,20 | 1,12 | 1,19 |
| 4. " 9 " | 16° | 0,78 | 0,54 | 0,61 | 0,57 | 0,64 | 0,64 |
| 5. " 9 " | 17° | 0,74 | 0,50 | 0,61 | 0,58 | 0,66 | 0,55 |
| Vom 16. Sept. bis 5. Okt. | | 19,51 | 17,57 | 17,68 | 18,03 | 17,39 | 19,26 |
| 6. Okt. 9 Uhr | 17° | 0,70 | 0,57 | 0,52 | 0,50 | 0,52 | 0,51 |
| 7. " 9 " | 17° | 0,58 | 0,47 | 0,57 | 0,58 | 0,56 | 0,53 |
| 8. " 9 " | 17° | 0,62 | 0,46 | 0,52 | 0,42 | 0,47 | 0,43 |
| 10. " 9 " | 14 1/2° | 0,86 | 0,69 | 0,77 | 0,73 | 0,88 | 0,65 |
| 12. " 9 " | 14° | 0,47 | 0,40 | 0,53 | 0,42 | 0,53 | 0,41 |
| 14. " 9 " | 14° | 0,58 | 0,52 | 0,61 | 0,50 | 0,59 | 0,44 |
| 18. " 9 " | 15° | 0,65 | 0,85 | 0,95 | 0,86 | 0,95 | 0,72 |
| 25. " 9 " | 15° | 0,62 | 1,04 | 1,10 | 1,07 | 1,15 | 0,82 |
| 31. " 9 " | 15° | 0,25 | 0,51 | 0,45 | 0,36 | 0,50 | 0,34 |
| 7. Nov. 9 " | 15° | 0,00 | 0,27 | 0,29 | 0,18 | 0,20 | 0,12 |
| Vom 16. Sept. bis 7. Nov. | | 24,84 | 23,35 | 23,99 | 23,65 | 23,74 | 24,23 |

Tabelle I, wo der Kohlensäureverlust pro 400 ccm in Gramm ausgedrückt ist¹⁾.

Sehr wichtig ist nun die Tatsache, daß alle Hefen, mit Ausnahme von Bußnang und Bischofszell, gleich am 1. Tage, von der Infektion an gerechnet, zu gären beginnen und in den ersten 5 Tagen sich durch eine kräftige Gärung auszeichnen, so daß, was Gärkraft anbelangt, unsere neuen Obstweihen sich den kräftigen Hefen Wädensweil und Steinberg ebenbürtig oder sich ihnen noch überlegen zeigen, wie Weinfeld und Tägerweilen. Da ein frühes kräftiges Einsetzen der Gärung auf die Qualität des Weines einen guten Einfluß ausüben muß, indem dadurch ein Aufkommen von Schimmelpilzen und vorzeitiges Erscheinen von Bakterien verhindert werden, entsprechen die Hefen, vielleicht mit Ausnahme von Bischofszell, den Anforderungen, die in dieser Hinsicht an sie gestellt werden. Die Hefe Bischofszell, die anfangs hinter den anderen zurückbleibt, holt im weiteren Verlauf das Versäumte nach und stellt sich am Ende auf die gleiche Stufe wie die übrigen Arten. Was so-

1) Die Gärverschlüsse der Flaschen waren mit ca. 5—10 ccm Schwefelsäure gefüllt, die während der Gärdauer Wasser aufgenommen, so daß der Kohlensäureverlust nur annähernd genau sein kann.

I.
400 ccm Teilersbirnensaft, in g ausgedrückt.

| Bischofszell | Tägerweilen | Altnau 1 | Sulgen | Engshofen 2 | Tägerweilen 1 | Sulgen 1 | Egnach 1 |
|--------------|-------------|----------|--------|-------------|---------------|----------|----------|
| 0,66 | 0,88 | 0,52 | 0,64 | 0,67 | 0,85 | 0,91 | 0,62 |
| 0,25 | 1,82 | 1,66 | 1,57 | 1,50 | 1,73 | 1,68 | 1,40 |
| 1,30 | 1,73 | 1,87 | 1,76 | 1,77 | 1,97 | 1,74 | 1,63 |
| 1,44 | 1,28 | 1,50 | 1,32 | 1,38 | 1,55 | 1,33 | 1,41 |
| 1,41 | 1,16 | 1,38 | 1,13 | 1,22 | 1,29 | 1,15 | 1,29 |
| 4,46 | 6,87 | 6,93 | 6,42 | 6,54 | 7,39 | 6,81 | 6,35 |
| 1,17 | 0,91 | 1,08 | 0,90 | 0,96 | 1,00 | 0,96 | 0,95 |
| 1,42 | 0,95 | 1,31 | 1,00 | 1,03 | 1,18 | 1,07 | 1,19 |
| 1,29 | 0,93 | 1,16 | 0,90 | 0,84 | 0,95 | 0,92 | 1,00 |
| 2,39 | 1,70 | 2,10 | 1,62 | 1,66 | 1,85 | 1,80 | 1,86 |
| 10,73 | 11,36 | 12,58 | 10,84 | 11,03 | 12,37 | 11,56 | 11,35 |
| 1,05 | 0,72 | 0,97 | 0,80 | 0,73 | 0,72 | 0,85 | 0,87 |
| 1,00 | 0,70 | 0,98 | 0,73 | 0,70 | 0,73 | 0,75 | 0,83 |
| 0,90 | 0,73 | 0,95 | 0,70 | 0,67 | 0,69 | 0,80 | 0,77 |
| 0,92 | 0,69 | 0,83 | 0,67 | 0,71 | 0,60 | 0,72 | 0,75 |
| 0,76 | 0,63 | 0,78 | 0,63 | 0,61 | 0,56 | 0,68 | 0,69 |
| 1,27 | 1,18 | 1,29 | 1,12 | 1,07 | 0,85 | 1,18 | 1,22 |
| 0,60 | 0,53 | 0,72 | 0,59 | 0,54 | 0,47 | 0,66 | 0,60 |
| 0,56 | 0,49 | 0,53 | 0,54 | 0,48 | 0,32 | 0,53 | 0,55 |
| 17,79 | 17,03 | 19,63 | 16,62 | 16,54 | 17,31 | 17,73 | 17,63 |
| 0,52 | 0,54 | 0,53 | 0,51 | 0,51 | 0,41 | 0,53 | 0,60 |
| 0,54 | 0,51 | 0,49 | 0,51 | 0,54 | 0,38 | 0,60 | 0,54 |
| 0,50 | 0,49 | 0,48 | 0,57 | 0,41 | 0,27 | 0,47 | 0,50 |
| 0,68 | 0,76 | 0,69 | 0,70 | 0,79 | 0,42 | 0,79 | 0,78 |
| 0,43 | 0,52 | 0,44 | 0,56 | 0,40 | 0,28 | 0,46 | 0,52 |
| 0,42 | 0,50 | 0,37 | 0,55 | 0,45 | 0,33 | 0,58 | 0,58 |
| 0,77 | 1,05 | 0,72 | 0,99 | 1,03 | 0,37 | 0,91 | 0,85 |
| 1,08 | 1,18 | 0,58 | 1,37 | 1,32 | 0,51 | 1,01 | 1,20 |
| 0,50 | 0,60 | 0,23 | 0,69 | 0,70 | 0,21 | 0,66 | 0,53 |
| 0,42 | 0,35 | 0,02 | 0,33 | 0,32 | 0,05 | 0,27 | 0,26 |
| 23,65 | 23,53 | 24,18 | 23,40 | 23,01 | 20,54 | 24,01 | 23,99 |

dann die Gärdauer und den Vergärungsgrad anbetrifft, so sind erhebliche Unterschiede zwischen den einzelnen Hefen nicht zu erkennen. Es brauchen sämtliche Arten verhältnismäßig lange Zeit, um die Gärung zu Ende zu führen. Es liegt die Ursache dieses Verhaltens weniger in den Hefen als in der Nährflüssigkeit. Zu einer stürmischen Gärung wie bei Traubensäften kommt es in Obstsaften eben nie, und dieselben Hefen, die Traubensäfte rasch vergären, verhalten sich anders, wenn sie in Obstsaften gebracht werden. Es wird kaum jemals gelingen, Hefen zu züchten, die sich Obstsaften gegenüber in dieser Hinsicht gleich verhalten, wie bei Traubensäften, die also z. B. einen Teilersbirnensaft in 8–14 Tagen vergären würden. Wohl zeigen sich einzelne Hefen etwas kräftiger, wie aus Tabelle I hervorgeht; auffallend verschieden von den anderen können wir ihr Verhalten kaum nennen.

Merkwürdigerweise weist die Hefe Tägerweilen 1, die sich anfangs durch den größten Kohlensäureverlust auszeichnet, am Ende der Gärung die geringste Kohlensäureabnahme auf, indem am 7. November dieselbe 20,54 g betrug, bei den anderen Arten dagegen 23–25 g. Und doch hätte Tägerweilen, wie aus dem Kohlensäureverlust während der letzten Tage zu ersehen ist, nicht mehr weiter gegoren; diese Hefe, die in den ersten 10 Tagen zu den gärkräftigsten gehört, weist den geringsten Vergärungsgrad auf.

Der Kohlensäureabnahme in Tabelle I entspricht die Alkoholproduktion; infolgedessen ergibt sich in dieser Hinsicht zwischen den verschiedenen Arten Uebereinstimmung, mit Ausnahme von Tägerweilen 1 [siehe Tabelle II¹⁾]. Es haben sämtliche Hefen den Saft bis auf einen geringen Zuckerrest vergoren, ausgenommen Tägerweilen 1; zwar hätte der direkt reduzierende Zuckerrest nichts Schlimmes ahnen lassen, wenn nicht die geringe Alkoholmenge, sowie der auffallend hohe Extraktgehalt auf unvergorenen Zucker hätten schließen lassen, der nicht im stande ist, direkt Fehlingsche Lösung zu reduzieren. In der Tat ergab sich bei der chemischen Analyse nach der Inversion des Weines der Kontrollflasche noch ein Zuckerrest von 1,834 Proz., wovon 0,223 Proz. Invertzucker und 1,61 Proz. Rohrzucker bei einem Alkoholgehalt von 6,01 Proz.

Was die Gesamtsäure, die wir als Aepfelsäure berechnet, anbetrifft, so treten zwischen einzelnen Hefen teilweise erhebliche Unterschiede auf. Der Säuregehalt schwankt zwischen 0,698 Proz. (Altnau) und 0,492 Proz. (Bischofszell). Die Hefen, die sich morphologisch von den übrigen Arten leicht unterscheiden lassen (Steinberg, Bischofszell und Tägerweilen 1) zeichnen sich durch die geringste Gesamtsäurebildung aus (0,533, 0,492 resp. 0,573 Proz.), während Steinberg und Bischofszell am meisten flüchtige Säure erzeugen (0,064 resp. 0,078 Proz.); Altnau mit dem größten Gesamtsäuregehalt bildet am wenigsten flüchtige Säure (0,030 Proz.).

Der zweite Gärversuch, den wir in gleicher Weise wie den ersten durchgeführt, wurde mit Teilersbirnensaft angestellt, dem man Rüben-

1) Bei der Durchsicht der analytischen Resultate wird dem aufmerksamen Leser nicht entgehen, daß die Alkoholmengen fast durchwegs größer sind als theoretisch möglich ist. Eine ähnliche Beobachtung machte auch Wortmann bei seinen „Untersuchungen über reine Hefen“. (Landwirtschaftliche Jahrbücher. 1894. p. 557.) Dieser Forscher führt die Mehrbildung von Alkohol auf Selbstgärung der Hefe zurück. „Die Hefezellen, welche in den inneren Schichten des Bodensatzes befindlich sind, unterhalten beim Uebergang in den Ruhezustand noch eine Zeitlang Selbstgärung, indem sie einen Teil der in ihnen enthaltenen Reservestoffe, Glykogen und Fett, langsam in Alkohol und Kohlensäure spalten.“

Tabelle II.

| Hefeart | Zucker Proz. | Alkohol Gewichts- Proz. | Gesamt- säure als Aepfel- säure Proz. | Flüchtige Säure als Essig- säure Proz. | Flüchtige Säure als Aepfel- säure Proz. | Nicht- flüchtige Säure als Aepfel- säure Proz. | Extrakt Proz. |
|---------------------------------------|-----------------|-------------------------------|---|--|---|---|------------------|
| Sterilisierter un- vergorener Saft | 13,88 | — | 0,405 | 0,047 | 0,052 | 0,353 | 18,97 |
| Steinberg 1 | 0,12 | 6,96 | 0,533 | 0,064 | 0,071 | 0,462 | 4,14 |
| Wädensweil | 0,21 | 6,96 | 0,656 | 0,035 | 0,039 | 0,617 | 4,57 |
| Engishofen 1 | 0,19 | 6,96 | 0,632 | 0,036 | 0,040 | 0,592 | 4,56 |
| Bussenang | 0,20 | 6,94 | 0,607 | 0,051 | 0,058 | 0,549 | 4,60 |
| Altnau | 0,20 | 6,74 | 0,698 | 0,030 | 0,034 | 0,664 | 4,74 |
| Weinfeldern | 0,19 | 6,86 | 0,585 | 0,043 | 0,048 | 0,537 | 4,53 |
| Bischofszell | 0,37 | 6,95 | 0,492 | 0,078 | 0,087 | 0,405 | 4,48 |
| Tägerweilen | 0,24 | 6,81 | 0,681 | 0,035 | 0,039 | 0,642 | 4,68 |
| Altnau 1 | 0,19 | 6,98 | 0,605 | 0,038 | 0,046 | 0,559 | 4,49 |
| Sulgen | 0,21 | 6,73 | 0,690 | 0,043 | 0,048 | 0,642 | 4,71 |
| Engishofen 2 | 0,21 | 6,92 | 0,690 | 0,031 | 0,035 | 0,655 | 4,65 |
| Tägerweilen 1 | 0,22 | 5,96 | 0,573 | 0,051 | 0,058 | 0,515 | 6,20 |
| Sulgen 1 | 0,19 | 6,91 | 0,617 | 0,043 | 0,048 | 0,569 | 4,58 |
| Egnach 1 | 0,20 | 6,87 | 0,637 | 0,032 | 0,036 | 0,601 | 4,67 |

würfelzucker zugefügt hatte, bis der Saft 75 ° Oechsle wog. Wir verwendeten dabei ebenfalls wieder 500 ccm-Flaschen mit je 400 ccm Saft, der bei 75 ° eine Stunde lang sterilisiert wurde. Der Versuch sollte hauptsächlich das Verhalten der verschiedenen Hefen in Bezug auf Alkoholbildung zeigen. Bei Tägerweilen und Altnau setzte die Gärung schon am 1. Tage kräftig ein; nach 4 Tagen zeigten sich sämtliche Arten in der Kohlensäureproduktion der Kontrollhefe Steinberg und teilweise auch Wädensweil überlegen (siehe Tabelle III). Die Flasche mit Bischofszell, Tägerweilen etc. wurden, wie übrigens aus der Tabelle hervorgeht, statt am 25. Juli wie die anderen, erst am 26. Juli mit den Hefen beschickt. Die Gärung dauerte bei sämtlichen Hefen wieder ungefähr gleich lange. In der Bildung von Alkohol zeichnete sich Steinberg 1 mit 8,61 Proz. vor allen anderen aus, während bei den übrigen Arten, mit Ausnahme von Tägerweilen 1 und Bischofszell, der Alkoholgehalt zwischen 7,82 und 8,33 Proz. schwankte (siehe Tabelle IV). Vollständig hatte sozusagen nur Steinberg 1 den Saft vergoren, während von den Obstweihen mehr oder weniger große Mengen direkt reduzierenden Zuckers nicht mehr angegriffen wurden. Bischofszell mit nur 6,68 Proz. Alkohol besitzt noch 3,86 Proz., Tägerweilen 1 mit 6,01 Proz. Alkohol nur 0,165 Proz. direkt reduzierenden Zucker. Nach der Inversion des Weines der Kontrollflasche ergab sich bei Tägerweilen 1 bei einem Alkoholgehalt von 6,26 Proz. eine Gesamtzuckermenge von 4,59 Proz., wovon 0,148 Proz. Invertzucker und 4,45 Proz. Rohrzucker. Entsprechend dem Vergärungsgrad, der auch auf Tabelle II aus dem Kohlensäureverlust zu ersehen ist, zeigte sich auch die Extraktmenge. Auffallend groß ist dieselbe, wie übrigens zu erwarten war, bei Tägerweilen 1 mit 8,55 Proz.

In der Gesamtsäure ergibt sich insofern wieder Uebereinstimmung mit dem 1. Versuch, als Altnau mit 0,77 Proz. wieder obenan steht und Bischofszell mit 0,47 Proz. die untere Grenze bildet; ebenso erzeugte Bischofszell wieder am meisten flüchtige Säure (0,056 Proz.) und Altnau am wenigsten (0,017 Proz.).

Tabelle
Kohlensäureverlust pro Flasche à 400 ccm

| Datum | Temp. | Stein- berg 1 | Wädens- weil | Engis- hofen 1 | Bußnang | Altnau | Wein- felden |
|--------------------------------|---------|------------------|-----------------|-------------------|---------|--------|-----------------|
| 26. Juli 2 Uhr | 21° | 0,37 | 0,34 | 0,05 | 0,01 | 0,43 | 0,17 |
| 27. " 1/2 3 Uhr | 21° | 2,25 | 2,94 | 3,00 | 3,13 | 3,27 | 3,19 |
| 28. " 1/2 3 " | 20 1/2° | 2,10 | 2,35 | 2,66 | 3,10 | 2,70 | 2,85 |
| 29. " 1/2 3 " | 20° | 1,85 | 1,84 | 2,17 | 2,71 | 2,26 | 2,46 |
| 30. " 1/2 3 " | 20 1/2° | 1,78 | 1,71 | 2,07 | 2,31 | 1,85 | 1,96 |
| Vom 25.—30. Juli | | 8,35 | 9,18 | 9,95 | 11,26 | 10,51 | 10,63 |
| 1. Aug. 1/2 3 Uhr | 22° | 3,45 | 2,95 | 3,65 | 4,10 | 3,25 | 3,53 |
| 2. " 1/2 3 " | 21 1/2° | 1,85 | 1,47 | 1,87 | 1,93 | 1,67 | 1,72 |
| 3. " 1/2 3 " | 21 1/2° | 1,70 | 1,25 | 1,63 | 1,67 | 1,37 | 1,40 |
| 4. " 1/2 3 " | 23° | 1,63 | 1,18 | 1,50 | 1,46 | 1,31 | 1,31 |
| Vom 25. Juli bis 4. Aug. | | 16,98 | 16,03 | 18,60 | 20,42 | 18,11 | 18,59 |
| 5. Aug. 1/2 3 Uhr | 22 1/2° | 1,61 | 1,18 | 1,50 | 1,36 | 1,23 | 1,17 |
| 6. " 1/2 3 " | 22 1/2° | 1,33 | 1,02 | 1,17 | 1,11 | 1,04 | 1,00 |
| 8. " 1/2 3 " | 23 1/2° | 2,55 | 1,87 | 2,10 | 1,74 | 1,88 | 1,76 |
| 9. " 1/2 3 " | 22 1/2° | 1,16 | 0,91 | 0,88 | 0,69 | 0,77 | 0,77 |
| 10. " 1/2 3 " | 22 1/2° | 1,03 | 0,81 | 0,78 | 0,56 | 0,78 | 0,67 |
| 11. " 1/2 3 " | 22 1/2° | 0,85 | 0,65 | 0,65 | 0,41 | 0,61 | 0,55 |
| 12. " 1/2 3 " | 20 1/2° | 0,74 | 0,63 | 0,47 | 0,40 | 0,57 | 0,47 |
| 13. " 1/2 3 " | 20 1/2° | 0,68 | 0,50 | 0,48 | 0,29 | 0,38 | 0,42 |
| 15. " 1/2 3 " | 23° | 1,13 | 0,98 | 0,82 | 0,48 | 0,77 | 0,70 |
| Vom 25. Juli bis 15. August | | 28,06 | 24,58 | 27,45 | 27,46 | 26,14 | 26,10 |
| Vom 25. Juli bis 25. August | | 30,66 | 27,43 | 29,45 | 28,68 | 28,06 | 27,95 |

Tabelle IV.

| Hefeart | Zucker Proz. | Alkohol Gewichts- Proz. | Gesamt- säure als Aepfel- säure Proz. | Flüchtige Säure als Essig- säure Proz. | Flüchtige Säure als Aepfel- säure Proz. | Nicht- flüchtige Säure als Aepfel- säure Proz. | Extrakt Proz. |
|---------------------------------------|-----------------|-------------------------------|---|--|---|---|------------------|
| Sterilisierter un- vergorener Saft | 16,70 | — | 0,38 | 0,030 | 0,034 | 0,35 | 21,84 |
| Steinberg 1 | 0,11 | 8,61 | 0,56 | 0,033 | 0,037 | 0,52 | 3,47 |
| Wädensweil | 0,63 | 8,24 | 0,69 | 0,021 | 0,024 | 0,66 | 4,03 |
| Engishofen 1 | 0,42 | 8,27 | 0,74 | 0,020 | 0,023 | 0,72 | 4,20 |
| Bussnang | 0,70 | 8,05 | 0,58 | 0,045 | 0,051 | 0,53 | 4,35 |
| Altnau | 0,51 | 8,12 | 0,77 | 0,017 | 0,019 | 0,75 | 4,44 |
| Weinfelden | 1,15 | 7,82 | 0,62 | 0,030 | 0,034 | 0,58 | 4,88 |
| Bischofszell | 3,86 | 6,68 | 0,47 | 0,056 | 0,062 | 0,40 | 7,30 |
| Tägerweilen | 1,22 | 7,88 | 0,70 | 0,029 | 0,032 | 0,67 | 5,00 |
| Altnau 1 | 1,27 | 7,93 | 0,67 | 0,025 | 0,028 | 0,64 | 4,94 |
| Sulgen | 0,70 | 7,88 | 0,75 | 0,026 | 0,029 | 0,72 | 4,47 |
| Engishofen 2 | 0,43 | 8,16 | 0,76 | 0,025 | 0,028 | 0,73 | 4,23 |
| Tägerweilen 1 | 0,16 | 6,01 | 0,59 | 0,031 | 0,035 | 0,55 | 8,55 |
| Sulgen 1 | 0,36 | 8,33 | 0,64 | 0,027 | 0,031 | 0,61 | 4,02 |
| Egnach 1 | 0,93 | 8,09 | 0,64 | 0,031 | 0,035 | 0,61 | 4,61 |

Bei beiden Gärversuchen weist Steinberg 1 den geringsten Gehalt an Extrakt und Zucker, beim 2. Versuch auch den größten Alkoholgehalt auf, wodurch sich diese Weinhefe von allen Obstweihenfen unterscheidet, auch von denjenigen, die Steinberg 1 während der ersten Zeit

III.
Teilersbirnensaft, in g ausgedrückt.

| Datum | Bischofszell | Tägerweilen | Altnau 1 | Sulgen | Engshofen 2 | Tägerweilen 1 | Sulgen 1 | Egnach 1 |
|-----------------------------|--------------|-------------|----------|--------|-------------|---------------|----------|----------|
| 27. Juli 9 Uhr | 0,19 | 2,05 | 1,43 | 0,17 | 0,11 | 0,03 | 0,02 | 0,07 |
| 28. " 9 " | 2,42 | 3,15 | 2,89 | 2,90 | 2,92 | 2,77 | 1,89 | 2,31 |
| 29. " 9 " | 2,70 | 2,50 | 2,51 | 2,48 | 2,78 | 2,71 | 2,72 | 2,80 |
| 30. " 9 " | 2,15 | 2,10 | 1,98 | 1,85 | 2,05 | 2,29 | 2,28 | 2,20 |
| 1. Aug. 9 " | 4,00 | 3,37 | 3,91 | 3,17 | 3,41 | 3,89 | 4,02 | 3,77 |
| Vom 26. Juli bis 1. August | 11,46 | 13,17 | 12,72 | 10,57 | 11,27 | 11,69 | 10,93 | 11,15 |
| 2. Aug. 9 Uhr | 1,90 | 1,60 | 1,93 | 1,51 | 1,57 | 1,76 | 1,87 | 1,76 |
| 3. " 9 " | 1,58 | 1,41 | 1,73 | 1,36 | 1,40 | 1,46 | 1,64 | 1,62 |
| 4. " 9 " | 1,40 | 1,27 | 1,56 | 1,23 | 1,32 | 1,19 | 1,47 | 1,47 |
| 5. " 9 " | 1,30 | 1,13 | 1,49 | 1,20 | 1,25 | 1,12 | 1,40 | 1,38 |
| Vom 26. Juli bis 5. August | 17,64 | 18,58 | 19,43 | 15,87 | 16,81 | 17,22 | 17,31 | 17,38 |
| 6. Aug. 9 Uhr | 1,04 | 1,06 | 1,25 | 1,11 | 1,12 | 0,74 | 1,25 | 1,20 |
| 8. " 9 " | 1,76 | 1,77 | 2,17 | 2,07 | 2,07 | 1,24 | 2,16 | 2,28 |
| 9. " 9 " | 0,72 | 0,76 | 0,93 | 0,92 | 0,98 | 0,49 | 0,96 | 1,01 |
| 10. " 9 " | 0,53 | 0,67 | 0,71 | 0,81 | 0,79 | 0,33 | 0,85 | 0,77 |
| 11. " 9 " | 0,42 | 0,57 | 0,64 | 0,75 | 0,78 | 0,28 | 0,75 | 0,71 |
| 12. " 9 " | 0,32 | 0,51 | 0,52 | 0,62 | 0,66 | 0,18 | 0,67 | 0,66 |
| 13. " 9 " | 0,27 | 0,43 | 0,51 | 0,63 | 0,59 | 0,13 | 0,55 | 0,60 |
| 15. " 9 " | 0,43 | 0,70 | 0,77 | 1,05 | 1,00 | 0,27 | 1,02 | 0,94 |
| Vom 26. Juli bis 15. August | 23,13 | 25,05 | 26,93 | 23,83 | 24,80 | 20,88 | 25,52 | 25,55 |
| Vom 26. Juli bis 25. August | 24,26 | 27,33 | 28,89 | 26,95 | 27,91 | 21,48 | 28,51 | 28,00 |

der Gärung an Gärkraft übertreffen, z. B. Tägerweilen 1, die in gewisser Beziehung gerade das Gegenstück zu Steinberg 1 bildete. Anfangs gärt Tägerweilen 1 kräftig, übertrifft Steinberg 1 in der Alkoholbildung, läßt dann aber bald nach in der Gärkraft, so daß noch ein größerer Zuckerrest unvergoren bleibt; anders die Hefe Steinberg 1, die von Beginn der Gärung an ein gleichmäßigeres Tempo einschlägt und später nachholt, was sie anfangs hinter Tägerweilen 1 zurückgeblieben ist. Vermutlich wird Tägerweilen 1 durch verhältnismäßig geringe Alkoholmengen in der Gärung gehemmt. Vergleichen wir nämlich auf Tabelle I den Kohlensäureverlust der Hefe Tägerweilen 1 mit demjenigen der benachbarten Hefen Egnach 1 und Sulgen 1, deren Gärverlauf sich durch größere Regelmäßigkeit auszeichnet, so sehen wir, wie nach ca. 10 Tagen, ungefähr vom 27. Sept. an eine größere Verzögerung in der Gärung der ersteren Hefe eintritt als bei den beiden anderen, zu einem Zeitpunkt, wo der Kohlensäureverlust ca. 13—14 g erreichte, d. h. ca. 3 Proz. Alkohol gebildet waren. Bei einem Vergleich derselben Hefen auf Tabelle III können wir dieselbe Beobachtung machen. Die Verzögerung im Gärverlauf, verglichen mit derjenigen der Hefen Egnach 1 und Sulgen 1, wird nach etwa 7 Tagen größer, ungefähr am 2. August, als der Kohlensäureverlust ca. 13—14 g erreichte, d. h. die Alkoholbildung bei ca. 3 Proz. anlangte. Von 3 Proz. Alkohol an wird die Gärkraft von Tägerweilen 1 beeinträchtigt; bei einem Alkoholgehalt von ca. 6 Proz. wird die Gärung unterdrückt, so daß je nach dem ursprünglichen Zuckergehalt ein größerer oder kleinerer Zuckerrest unvergoren zurückbleibt. Daß bei beiden Versuchen eine größere Menge Zucker nicht einmal invertiert war, könnte zu der Vermutung Anlaß geben, daß Tägerweilen 1 nicht im stande sei, Invertin zu bilden und sich in dieser

Beziehung verhalte wie *Saccharomyces apiculatus*. Die chemische Analyse der Kontrollflaschen mit den sterilisierten unvergorenen Obst-säften und den Obstweinen ergab nämlich folgendes.

I. Versuch.

| | | |
|---------------------|--------------|-------------|
| Steril, unvergoren: | Gesamtzucker | 13,88 Proz. |
| | Invertzucker | 12,16 „ |
| | Rohrzucker | 1,72 Proz. |
| Vergoren: | Gesamtzucker | 1,83 Proz. |
| | Invertzucker | 0,22 „ |
| | Rohrzucker | 1,61 Proz. |

II. Versuch.

| | | |
|---------------------|--------------|-------------|
| Steril, unvergoren: | Gesamtzucker | 16,70 Proz. |
| | Invertzucker | 12,68 „ |
| | Rohrzucker | 4,02 Proz. |
| Vergoren: | Gesamtzucker | 4,59 Proz. |
| | Invertzucker | 0,14 „ |
| | Rohrzucker | 4,45 Proz. |

Bei Versuch I stimmt der Rohrzuckergehalt nach der Gärung mit demjenigen vor der Gärung annähernd überein; eine Inversion hat also nur in ganz geringem Maße oder vielleicht gar nicht stattgefunden. Bei Versuch II finden wir nach der Gärung 0,43 Proz. mehr Rohrzucker als vor derselben, was kaum möglich wäre, wenn wir nicht annehmen müßten, daß durch zweimalige Sterilisation der Flasche mit unvergorenem Saft eine geringe Menge Rohrzucker invertiert worden sei. Jedenfalls hat während der Gärung dieses Saftes keine Inversion stattgefunden. Vergleichen wir mit diesen Resultaten Inversionsversuche, welche Kelhofer¹⁾ seinerzeit mit Trauben- und Obst-säften, die mit Rohrzucker versetzt wurden, zum Zwecke der Feststellung des Zeitpunktes der Inversion anstellte.

Ein mit Rohrzucker versetzter Traubenmost wies in den ersten 4 Tagen der Gärung folgenden Gehalt an direkt und indirekt vergärungs-fähigem Zucker auf:

| Untersucht den | Invertzucker Proz. | Rohrzucker Proz. | Gesamt- zucker Proz. | Vergoren Proz. |
|----------------|-----------------------|---------------------|----------------------------|-------------------|
| 1893 | | | | |
| 30. September | 13,71 | 4,67 | 18,38 | — |
| 1. Oktober | 14,67 | 0,23 | 14,90 | 3,48 |
| 2. „ | 10,11 | — | 10,12 | 8,26 |
| 3. „ | 6,30 | — | 6,30 | 12,08 |

Etwas langsamer erfolgt die Inversion in Obst-säften, wie aus folgendem Versuch Kelhofers hervorgeht:

Teilersbirnensaft mit Rohrzucker.

| Untersucht den | Invertzucker Proz. | Rohrzucker Proz. | Gesamt- zucker Proz. | Vergoren Proz. |
|----------------|-----------------------|---------------------|----------------------------|-------------------|
| 1893 | | | | |
| 27. Oktober | 8,48 | 5,52 | 14,00 | — |
| 1. November | 9,54 | 0,36 | 9,90 | 4,10 |
| 5. „ | 7,19 | 0,16 | 7,85 | 6,15 |
| 18. „ | 3,76 | — | 3,76 | 10,24 |

1) IV. Jahresbericht der deutsch-schweizerischen Versuchstation und Schule für Obst-, Wein- und Gartenbau. 1893/94. p. 95.

Die Umwandlung des Rohrzuckers in Invertzucker erfolgte also bei Versuch I sehr rasch, bei Versuch II in verhältnismäßig kurzer Zeit. Dabei ist allerdings zu bemerken, daß Kelhofer nicht mit Reinhefe, sondern mit einem Hefegemisch arbeitete. Um die Frage, ob Tägerweilen 1 im stande ist, Invertin zu bilden oder nicht, zu entscheiden, stellten wir einen Gärversuch mit einer Rohrzuckerlösung an, der noch folgende Mengen Nährsalze zugefügt wurden:

- 0,2 Proz. Monokaliumphosphat,
- 0,02 „ Magnesiumsulfat,
- 0,01 „ Chlorcalcium,
- 1 „ Pepton.

Von dieser Rohrzuckerlösung wurden je 300 ccm in 4 Flaschen à 400 ccm abgefüllt und während einer Stunde bei 100° sterilisiert. Je 2 Flaschen wurden am 19. Januar 1905 mit Tägerweilen 1 und zur Kontrolle mit Weinfeldern aus Strichkulturen infiziert. Der Gärverlauf der beiden Hefen ist aus folgender Tabelle ersichtlich. Die Gärflaschen standen in der Nähe eines Ofens bei einer Temperatur von 15—22°.

Kohlensäureverlust pro Flasche, in Gramm ausgedrückt.

| Datum | Weinfeldern | | Tägerweilen 1 | |
|---|-------------|-------|---------------|------|
| | a | b | a | b |
| 21. Januar 2 Uhr | 0,50 | 0,17 | — | — |
| 23. „ 2 „ | 1,85 | 1,78 | 0,14 | 0,12 |
| 25. „ 4 „ | 1,85 | 1,85 | 0,40 | 0,43 |
| 27. „ 4 „ | 1,50 | 1,65 | 0,84 | 0,67 |
| 30. „ 4 „ | 2,13 | 1,77 | 0,81 | 1,02 |
| 1. Februar 4 „ | 1,17 | 1,06 | 0,68 | 0,49 |
| 3. „ 4 „ | 0,92 | 0,92 | 0,35 | 0,44 |
| 6. „ 4 „ | 0,96 | 1,35 | 0,72 | 0,56 |
| 9. „ 4 „ | 0,85 | 0,96 | 0,70 | 0,50 |
| 12. „ 4 „ | 0,69 | 0,77 | 0,50 | 0,64 |
| 20. „ 4 „ | 0,41 | 0,47 | 0,03 | 0,72 |
| 28. „ 4 „ | 0,24 | 0,28 | 0,67 | 0,70 |
| Gesamtkohlensäureverlust vom 19. Januar bis 28. Februar | 13,07 | 13,03 | 6,34 | 6,29 |

Wie verschieden die beiden Hefen, die bei der Gärung im Teilersbirnensaft in den ersten 10 Tagen nicht erheblich voneinander abwichen, sich in der Rohrzuckerlösung verhalten, geht aus dieser Tabelle genügend hervor. Die chemische Analyse auf Alkohol und Zucker bei Weinfeldern a und Tägerweilen 1 a ergab am 28. Februar folgende Resultate:

- 1) Weinfeldern a: Alkohol = 4,81 Proz. 2) Tägerweilen 1 a: Alkohol = 2,56 Proz.
- Vor der Inversion Zucker = 0 „ Vor der Inversion Zucker = 0 „
- Nach der „ „ = 0 „ Nach der „ „ = 4,55 „

Die Rohrzuckerlösung enthielt ursprünglich 9,620 Proz. Rohrzucker und 0,094 Proz. Invertzucker. Weinfeldern hatte also vollständig vergoren, Tägerweilen 1 etwa zur Hälfte. Der Versuch lehrt uns zweierlei: 1) daß die Hefe Tägerweilen 1 Rohrzucker vergären kann, also auch Invertin zu bilden vermag, und 2) daß es nicht der Alkohol allein sein kann, der diese Hefe bei der Gärung zu hemmen vermag, denn sonst müßte Tägerweilen 1 in der Rohrzuckerlösung anfangs ebenso rasch gären wie Weinfeldern, der sie sich ja in der Gärkraft zum mindesten ebenbürtig zeigt, wenigstens in den ersten Tagen der Gärung. Interessant ist auch bei Tägerweilen 1 das Fehlen von Invertzucker; es scheint, daß diese Hefen nur geringe Mengen Invertin zu bilden vermag, die nur geringe Zuckermengen zu invertieren vermögen, was wieder

einen hemmenden Einfluß auf die Gärung ausüben könnte. Der vorhandene invertierte Zucker wurde jeweils rasch vergoren.

Anhangsweise sollen noch zwei Gärversuche angeführt werden, die mit den in unserer ersten Mitteilung ausführlich beschriebenen Obstweinhefen angestellt wurden. Zu dem einen Versuch verwendeten wir Teilersbirnensaft, zu dem anderen Schellerbirnensaft in Flaschen à 400 ccm resp. 300 ccm. Die 1-proz. Hefenaussaat geschah beim Teilersbirnensaft am 22. September beim Schellerbirnensaft am 26. Oktober. Ueber den Gärverlauf und Vergärungsgrad geben die Tabellen V und VI Aufschluß. Die Resultate der chemischen Analyse nach der Gärung sind in den Tabellen VII und VIII zusammengestellt. Die Daten auf Tabelle V dürfen nicht etwa direkt verglichen werden mit denjenigen auf Tabelle I, da die chemische Zusammensetzung der betreffenden Teilersbirnensäfte, wie aus Tabelle VII und Tabelle II hervorgeht, eine verschiedene war. Wir sehen, daß im Teilersbirnen- wie im Schellerbirnensaft die Hefen Meggen, Malters, Egnach, Bießenhofen, Hutzenwyl und Engishofen den Kontrollhefen Steinberg 1 und Wädensweil in der Gärkraft sich ebenbürtig oder sogar noch überlegen zeigen, daß sie aber unter sich in dieser Beziehung nicht erheblich voneinander abweichen, mit Ausnahme vielleicht von Meggen, welche Hefe bei beiden Versuchen,

Tabelle V.
Kohlensäureverlust pro Flasche à 400 ccm Teilersbirnensaft, in Gramm ausgedrückt.

| Datum | Temp. | Steinberg 1 | Wädensweil 4 | Meggen | Malters | Egnach | Bießenhofen | Hutzenwyl | Engishofen |
|----------------------------|------------------------|-------------|--------------|--------|---------|--------|-------------|-----------|------------|
| 23. Sept. 11 Uhr | 17 $\frac{1}{2}$ ° | 0,10 | 0,23 | 0,27 | 0,02 | 0,17 | 0,27 | 0,03 | 0,35 |
| 24. " 11 " | | 1,42 | 1,93 | 2,27 | 2,08 | 2,25 | 2,21 | 1,93 | 2,37 |
| 25. " 11 " | | 1,55 | 1,94 | 2,25 | 2,09 | 2,25 | 1,90 | 2,19 | 2,23 |
| 26. " 11 " | | 1,51 | 1,86 | 2,21 | 1,81 | 1,91 | 1,75 | 1,87 | 2,04 |
| 27. " 11 " | | 1,35 | 1,55 | 2,04 | 1,49 | 1,68 | 1,64 | 1,44 | 1,71 |
| Vom 22.—27. Sept. | | 5,93 | 7,51 | 9,04 | 7,49 | 8,26 | 7,77 | 7,46 | 8,70 |
| 28. Sept. 11 Uhr | 16 $\frac{1}{2}$ —18 ° | 1,44 | 1,40 | 1,76 | 1,38 | 1,39 | 1,38 | 1,30 | 1,45 |
| 29. " 11 " | | 1,43 | 1,36 | 1,77 | 1,25 | 1,23 | 1,37 | 1,15 | 1,27 |
| 30. " 11 " | | 1,33 | 1,18 | 1,45 | 1,17 | 1,05 | 1,21 | 0,89 | 1,03 |
| 1. Okt. 11 " | | 1,39 | 1,00 | 1,18 | 0,93 | 0,90 | 1,02 | 0,86 | 0,94 |
| 2. " 11 " | | 1,28 | 0,96 | 1,05 | 0,87 | 0,89 | 1,00 | 0,72 | 0,75 |
| Vom 22. Sept. bis 2. Okt. | | 12,80 | 13,41 | 16,25 | 13,09 | 13,72 | 13,75 | 12,38 | 14,14 |
| 3. Okt. 11 Uhr | | 1,28 | 0,92 | 0,92 | 0,90 | 0,81 | 0,83 | 0,63 | 0,73 |
| 4. " 11 " | | 1,19 | 0,87 | 0,76 | 0,75 | 0,75 | 0,84 | 0,69 | 0,70 |
| 5. " 11 " | | 0,91 | 0,70 | 0,59 | 0,68 | 0,54 | 0,58 | 0,57 | 0,61 |
| 6. " 11 " | | 0,95 | 0,66 | 0,50 | 0,48 | 0,60 | 0,62 | 0,48 | 0,47 |
| 7. " 11 " | 0,72 | 0,55 | 0,35 | 0,53 | 0,48 | 0,55 | 0,41 | 0,42 | |
| 9. " 11 " | 1,23 | 0,99 | 0,70 | 0,92 | 0,87 | 0,85 | 0,84 | 0,80 | |
| 11. " 11 " | 0,77 | 0,83 | 0,33 | 0,59 | 0,56 | 0,68 | 0,68 | 0,52 | |
| 13. " 11 " | 0,64 | 0,75 | 0,44 | 0,62 | 0,59 | 0,62 | 0,67 | 0,60 | |
| Vom 22. Sept. bis 13. Okt. | | 20,49 | 19,68 | 20,84 | 18,56 | 18,92 | 19,32 | 17,35 | 18,99 |
| 15. Okt. 11 Uhr | | 0,41 | 0,58 | 0,18 | 0,59 | 0,45 | 0,44 | 0,65 | 0,48 |
| 17. " 11 " | | 0,33 | 0,42 | 0,20 | 0,43 | 0,35 | 0,32 | 0,46 | 0,32 |
| 19. " 11 " | | 0,15 | 0,32 | 0,10 | 0,22 | 0,18 | 0,24 | 0,37 | 0,20 |
| 21. " 11 " | | 0,15 | 0,35 | 0,08 | 0,32 | 0,22 | 0,26 | 0,39 | 0,25 |
| 23. " 11 " | | 0,05 | 0,20 | 0,09 | 0,20 | 0,11 | 0,10 | 0,36 | 0,20 |
| 25. " 11 " | | 0,12 | 0,05 | 0,03 | 0,17 | 0,11 | 0,09 | 0,20 | 0,10 |
| 29. " 11 " | | 0,08 | 0,31 | 0,10 | 0,23 | 0,06 | 0,15 | 0,47 | 0,15 |
| Vom 22. Sept. bis 29. Okt. | | 21,78 | 21,91 | 21,62 | 20,72 | 20,40 | 20,92 | 20,25 | 20,69 |

insbesondere bei demjenigen mit dem Teilersbirnensaft, sich vor allen anderen durch kräftigere Gärung, namentlich während der ersten Periode auszeichnet. Sämtliche Hefen vergären, so ziemlich übereinstimmend, während derselben Zeitdauer die Obstsaft, so daß sich bei der Bildung von Alkohol keine nennenswerten Differenzen ergeben. Größere Unterschiede treten hingegen bei der Gesamtsäure auf; in Uebereinstimmung mit den früheren Ergebnissen (siehe Tabelle II und Tabelle IV) tritt auch bei diesen Versuchen Steinberg 1 mit der geringsten Menge Gesamtsäure auf (beim Teilersbirnensaft = 0,414 Proz., beim Schellerbirnensaft 0,457 Proz.), während Egnach in beiden Fällen am meisten Gesamtsäure bildete (0,654 resp. 0,815 Proz.). Im Teilersbirnensaft zeigt Steinberg 1 wieder den geringsten Extraktgehalt, während diese Hefe im Schellerbirnensaft in dieser Beziehung von Hutzenwyl noch übertroffen wird.

Tabelle VI.
Kohlensäureverlust pro Flasche à 300 ccm Schellerbirnensaft, in Gramm ausgedrückt.

| Datum | Temp. | Steinberg 1 | Wädensweil 4 | Meggen | Malters | Egnach | Bießenhofen | Hutzenwyl | Engishofen |
|---------------------------|--------|-------------|--------------|--------|---------|--------|-------------|-----------|------------|
| 27. Okt. 1/2, 3 Uhr | 17 1/2 | 0,10 | 0,10 | 0,20 | 0,12 | 0,12 | 0,27 | 0,28 | 0,15 |
| 28. " 1/2, 3 " | 17 1/2 | 0,57 | 0,70 | 0,83 | 0,75 | 0,75 | 0,71 | 0,81 | 0,78 |
| 29. " 1/2, 3 " | 17 1/2 | 0,44 | 0,61 | 0,68 | 0,58 | 0,67 | 0,55 | 0,60 | 0,67 |
| 30. " 1/2, 3 " | 18 1/2 | 0,53 | 0,52 | 0,72 | 0,47 | 0,53 | 0,57 | 0,48 | 0,60 |
| 31. " 1/2, 3 " | 16 1/2 | 0,54 | 0,47 | 0,63 | 0,52 | 0,53 | 0,51 | 0,40 | 0,50 |
| Vom 26.—31. Oktober | | 2,18 | 2,40 | 3,06 | 2,44 | 2,60 | 2,61 | 2,57 | 2,70 |
| 1. Nov. 1/2, 3 Uhr | 16 1/2 | 0,40 | 0,38 | 0,57 | 0,35 | 0,30 | 0,42 | 0,35 | 0,35 |
| 2. " 1/2, 3 " | 17 1/2 | 0,47 | 0,42 | 0,57 | 0,36 | 0,36 | 0,38 | 0,29 | 0,33 |
| 3. " 1/2, 3 " | 17 | 0,42 | 0,26 | 0,53 | 0,35 | 0,33 | 0,46 | 0,23 | 0,26 |
| 4. " 1/2, 3 " | 16 1/2 | 0,43 | 0,37 | 0,48 | 0,30 | 0,30 | 0,45 | 0,24 | 0,33 |
| 5. " 1/2, 3 " | 17 | 0,45 | 0,37 | 0,49 | 0,34 | 0,35 | 0,38 | 0,29 | 0,28 |
| Vom 26. Okt. bis 5. Nov. | | 4,35 | 4,20 | 5,70 | 4,14 | 4,24 | 4,70 | 3,97 | 4,25 |
| Vom 26. Okt. bis 15. Nov. | | 7,82 | 6,62 | 9,43 | 6,53 | 6,42 | 7,65 | 5,75 | 6,20 |
| Vom 26. Okt. bis 11. Dez. | | 12,39 | 10,43 | 12,96 | 9,67 | 9,79 | 12,22 | 8,84 | 9,24 |
| Vom 26. Okt. bis 7. Jan. | | 12,67 | 12,53 | 13,00 | 11,14 | 11,42 | 13,37 | 10,96 | 10,95 |

Tabelle VII.
Teilersbirnensaft.

| Hefeart | Zucker | Alkohol Gewichts-Proz. | Gesamtsäure als Aepfelsäure | Flüchtige Säure als Essigsäure | Flüchtige Säure als Aepfelsäure | Nicht-flüchtige Säure als Aepfelsäure | Extrakt |
|----------------------------|--------|------------------------|-----------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|---------|
| | Proz. | | Proz. | Proz. | Proz. | Proz. | Proz. |
| Steriler unvergorener Saft | 11,39 | — | 0,292 | 0,038 | 0,042 | 0,250 | 15,46 |
| Steinberg 1 | 0,10 | 6,53 | 0,414 | 0,022 | 0,024 | 0,390 | 2,70 |
| Wädensweil | 0,11 | 6,10 | 0,595 | 0,038 | 0,042 | 0,554 | 2,97 |
| Meggen | 0,10 | 6,47 | 0,528 | 0,017 | 0,020 | 0,508 | 2,97 |
| Malters | 0,10 | 6,18 | 0,608 | 0,020 | 0,023 | 0,585 | 2,95 |
| Egnach | 0,10 | 6,12 | 0,654 | 0,015 | 0,017 | 0,637 | 3,02 |
| Bießenhofen | 0,09 | 6,15 | 0,598 | 0,017 | 0,020 | 0,578 | 3,02 |
| Hutzenwyl | 0,10 | 6,27 | 0,640 | 0,024 | 0,027 | 0,613 | 3,11 |
| Engishofen | 0,09 | 6,51 | 0,604 | 0,027 | 0,030 | 0,574 | 3,08 |

Tabelle VIII.
Schellerbirnensaft.

| Hefeart | Zucker Proz. | Alkohol Gewichts- Proz. | Gesamt- säure als Aepfel- säure Proz. | Flüchtige Säure als Essig- säure Proz. | Flüchtige Säure als Aepfel- säure Proz. | Nicht- flüchtige Säure als Aepfel- säure Proz. | Ex- trakt Proz. |
|----------------------------|-----------------|-------------------------------|---|--|---|---|-----------------------|
| Steriler unvergorener Saft | 9,32 | — | 0,381 | 0,011 | 0,013 | 0,368 | — |
| Steinberg 1 | 0,10 | 4,85 | 0,457 | 0,026 | 0,029 | 0,428 | 3,34 |
| Wädensweil | 0,12 | 4,83 | 0,803 | 0,011 | 0,013 | 0,790 | 3,70 |
| Meggen | 0,08 | 4,92 | 0,602 | 0,014 | 0,016 | 0,586 | 3,50 |
| Malters | 0,10 | 4,87 | 0,746 | 0,026 | 0,029 | 0,717 | 3,64 |
| Egnach | 0,14 | 4,72 | 0,815 | 0,014 | 0,016 | 0,799 | 3,83 |
| Bießenhofen | 0,08 | 4,92 | 0,682 | 0,014 | 0,016 | 0,666 | 3,55 |
| Hutzenwyl | 0,15 | 4,72 | 0,783 | 0,019 | 0,021 | 0,762 | 3,28 |
| Engishofen | 0,10 | 4,98 | 0,762 | 0,020 | 0,022 | 0,740 | 3,80 |

Ziehen wir, am Schluß unserer Mitteilung angelangt, die Resultate unserer bisherigen Untersuchungen über die Obstweihenfen zusammen, so ergibt sich zunächst, daß die gekräftigsten Vertreter der letzteren verschiedenen Arten angehören, die in morphologischer Hinsicht leicht voneinander zu trennen sind, während in gärungsphysiologischer Hinsicht, wie die Tabellen leicht erkennen lassen, die Diagnose schwieriger würde, mit Ausnahme von Tägerweilen 1. Bei einer detaillierteren Analyse der Weine auf die verschiedensten Gärprodukte würden sich ohne Zweifel auch auf diesem Wege noch typische Unterscheidungsmerkmale ergeben; wenigstens läßt die Kostprobe der mit verschiedenen Hefen vergorenen Weine, bei der merkliche Unterschiede im Geschmack hervortraten, darauf schließen¹⁾.

1) Diese Tatsache veranlaßt uns noch zu folgender Bemerkung. Eine Obstweihene entspricht unseren Anforderungen, wenn sie eine große Gärkraft besitzt und den Obstwein in geschmacklicher Hinsicht vorteilhaft zu beeinflussen vermag. Nach unseren bisherigen Beobachtungen ist nun kaum anzunehmen, daß wir noch Hefen zu gewinnen vermögen, die, was die erstere Eigenschaft anbelangt, von den bisher bekannten erheblich abweichen werden. Wir glauben uns kaum zu täuschen, wenn wir annehmen, daß unsere gärkräftigsten Obstweihenfen, die wir bisher kennen gelernt, es auch bleiben würden, wenn wir unsere Studien in dieser Richtung fortsetzen sollten. Dagegen ist es nicht ausgeschlossen, daß man bei weiteren Versuchen noch Hefen finden kann, die, was günstige Beeinflussung des Geschmackes und des Bouquets der Obstweine anbelangt, alle anderen Hefen hinter sich lassen. Ermutigend, nach solchen Obstweihenfen zu suchen, wirkt folgende Entdeckung von H. Claussen vom Laboratorium der Brauerei Ny Carlsberg. Claussen hat in den typischen englischen Bieren eine *Torula*-Art als ständigen Begleiter der normalen Hefe beobachtet und von ihr nachgewiesen, daß ohne sie jener Biertypus gar nicht zu stande kommt. Er hat die *Torula*-Art *Brittanomyces* benannt. In Reinkultur in Würze ruft sie eine langsam verlaufende Gärung hervor, eine ebensolche Nachgärung in mit gewöhnlicher Brauereihefe vergorenem Bier. Die dabei entwickelte Kohlensäure wird sehr fest zurückgehalten und bildet, wenn sie durch kräftiges Schütteln freigemacht wird, einen voluminösen und dauerhaften Schaum. Während der Gärung bildet sich eine verhältnismäßig bedeutende Säuremenge und in Verbindung hiermit treten ätherische Stoffe auf, deren Geruch und Geschmack jeden Kenner an die gelagerten englischen Biersorten in auffälliger Weise erinnern. Wenn man pasteurisiertes Bier mit ein paar Tropfen einer *Brittanomyces*-Kultur in Würze versetzt und die Flasche 10—14 Tage bei 25 bis 30° C stehen läßt, bildet sich ein geringer Bodensatz und gleichzeitig nimmt das Bier jenes eigenartige feine Aroma an, das die englischen Biere auszeichnet und in hohem Maße ihren Wert bedingt. (Nach Lindner in „Chemische Zeitschrift“, Jg. IV. No. 1.)

Sämtliche Hefen, die den Gegenstand unserer Untersuchungen bildeten, die Weihen Steinberg 1, Abmannshausen 5, Erbach, Ay, Champagne eingeschlossen, lassen sich sodann in 2 Gruppen einteilen nach dem Verhalten ihres Bodensatzes im Teilersbirnensaft:

1) solche Hefen, die im Bodensatz des Teilersbirnensaftes nur elliptische Zellen zu bilden vermögen, sich, was die Form der Zellen anbetrifft, wie *Sacch. ellipsoideus* I oder II Hansen verhalten: Die Weihen Ay, Champagne, Steinberg, Abmannshausen und die Obstweihen Meggen, Biezenhofen, Tägerweilen 1 und Bischofszell,

2) solche Hefen, die im Bodensatz des Teilersbirnensaftes elliptische und lange keulenförmige sogenannte pastoriane Zellen, bilden sich in dieser Hinsicht wie *Sacch. Pastorianus* I Hansen, *Sacch. Past.* II (*S. intermedius*) oder *Sacch. Pastor.* III (*Sacch. validus*) Hansen verhalten, und deren Impfstrichkulturen auf Nährgelatine gefranst erscheinen. Dahin gehört die Weihe Erbach und die große Mehrzahl der von uns beschriebenen Obstweihen: Hutzenwyl, Engishofen, Egnach, Malter, Wädensweil, Engishofen 1, Bußnang, Altnau, Weinfeld, Tägerweilen, Altnau 1, Sulgen, Engishofen 2, Sulgen 1 und Egnach 1¹⁾.

Daß wir auch Hefen wie Engishofen 1, Weinfeld, Altnau 1, Sulgen, Tägerweilen 1, Sulgen 1, bei denen wir auf dem Gipsblock keine Sporen gefunden haben, zu den Saccharomyceten rechnen, mag dem Systematiker auffallen. Allein wir wollen diese Hefen, die sich sonst durchwegs so ähnlich verhalten wie die sporenbildenden, nicht deswegen in eine ganz

1) Allerdings können wir diese Gruppierung nur dann leicht durchführen, wenn die Hefen in Obstsaften, z. B. in Teilersbirnensaft gezüchtet werden; auch die pastorianen Hefen, die wir in dieser Mitteilung beschrieben, vermögen im Traubensaft keine oder nur ganz wenig pastoriane Zellen zu bilden, die zudem nicht die Länge derjenigen in Obstsaften erreichen. Es ist also nicht gleichgültig, welche Nährflüssigkeiten wir beim morphologischen Studium der Hefen verwenden, woraus mit aller Deutlichkeit hervorgeht, daß diejenigen, die sich diesem Studium widmen und vergleichbare Resultate erhalten wollen, eine konventionelle Arbeitsmethode anstreben sollten. Wie notwendig eine solche ist, geht übrigens auch aus Hansens Untersuchungen über die Sporenbildung der Hefen hervor. Wenn wir beim Beginn unserer Untersuchungen von der Frage ausgegangen sind, in welchem Verwandtschaftsverhältnis die Obstweihen- und Traubenweihen zueinander stehen, so müssen wir heute bekennen angesichts der ungleichen Verhältnisse, unter denen die Hefen kultiviert wurden, daß es nicht angeht, die von Aderhold gründlich studierten Traubenweihen mit unseren Obstweihen zu vergleichen. Schreibt ja z. B. Aderhold, wie wir übrigens früher schon erwähnt, daß er in den meisten deutschen Weinen keine *Sacch. Pastorianus*-Arten gefunden habe, eine Beobachtung, die an und für sich wohl richtig sein kann, aber nicht richtig gedeutet wurde. Eine langgestreckte keulenförmige Hefezelle in Traubenweinen läßt wohl auf eine pastoriane Hefeart schließen (vorausgesetzt, daß wir es nicht mit Hautformen zu tun haben), eine elliptische Hefezelle hingegen kann zu einer elliptischen oder auch zu einer pastorianen Hefeart gehören. Wer weiß, wie verbreitet Hefearten mit pastorianen Formen sind und wie kräftig dieselben auch im Traubensaft gären können, wird kaum annehmen wollen, daß *Sacch. Pastorianus*-Arten in den deutschen Weinen fehle. Uebrigens zeigt uns gerade dieses Variieren der Hefen in verschiedenen Nährmedien neuerdings, wie wenig Wert man auf die Gestalt der Hefezellen legen darf. Ganz ignorieren sollte man allerdings die Form nicht, namentlich dann nicht, wenn man in derselben, wie wir dies bei unseren Untersuchungen im Teilersbirnensaft gesehen, ein Mittel besitzen, das in systematischer Richtung wegleitend sein kann. So würden wir es begrüßen, wenn Hansen, der eine größere Abhandlung über die Systematik der Saccharomyceten in Aussicht gestellt hat, bei der Gattung *Saccharomyces* Meyen alle diejenigen Hefen, die pastoriane Formen zu bilden vermögen, in eine Gruppe und diejenigen, die nur elliptische Zellen erzeugen, in eine andere Gruppe einreihen würde. Eine solche Einteilung setzt aber, wie aus unserer Mitteilung genugsam hervorgeht, voraus, daß die bis jetzt beschriebenen zahlreichen Arten in einer Normalnährlösung kultiviert werden.

andere systematische Stellung bringen, weil bisher keine Sporen beobachtet worden sind. Am ehesten konnte noch die Hefe Bischofszell von der Gattung *Saccharomyces* Meyen getrennt werden, indem ihre Zellen durchwegs kleiner sind als diejenigen der elliptischen Hefearten und Bischofszell auch in gärungsphysiologischer Hinsicht ein etwas abweichendes Verhalten zeigt. Man könnte sie vorderhand vielleicht am besten unter die *Torula* Hansen einreihen.

Tafelerklärung.

| | | |
|----------|------------------------|----------------|
| Fig. 1. | Riesenkolonie der Hefe | Engishofen 2. |
| Fig. 2. | " " | Bußnang. |
| Fig. 3. | " " | Altnau 1. |
| Fig. 4. | " " | Egnach 1. |
| Fig. 5. | " " | Altnau. |
| Fig. 6. | " " | Tägerweilen 1. |
| Fig. 7. | " " | Sulgen 1. |
| Fig. 8. | " " | Engishofen 1. |
| Fig. 9. | " " | Tägerweilen. |
| Fig. 10. | " " | Bischofszell. |

Vergr. ca. 1,5:1.

Nachdruck verboten.

Ueber die Bedeutung der streng anaëroben Fäulnisbacillen für die Käsureifung.

(8. Mitteilung.)

Von Dr. **Antonio Rodella,**

Vorstand des bakteriologischen Laboratoriums zu Lodi.

Mit 2 Tafeln.

In der vorhergehenden Veröffentlichung hatte ich versprochen, möglichst bald die Schilderung der morphologischen und biologisch-chemischen Eigentümlichkeiten von 4 neuen Anaërobenarten zu liefern. Da nun aber die Untersuchungen über die Fäulnisanaëroben mir Mitteilungen neuer Ergebnisse gestatten, und da andererseits die Beschreibung jener neuen Arten infolge äußerer Umstände noch etwas auf sich warten läßt, so halte ich es für angezeigt, die gegenwärtige Mitteilung vorzuschicken, die gerade den Zweck hat, neue Resultate über die Gärungsprodukte infolge der Tätigkeit von Fäulnisanaëroben darzulegen.

Hierzu sehe ich mich um so mehr veranlaßt, als es v. Freudenreich¹⁾ auch in seiner jüngsten Abhandlung beliebt hat, ohne jegliche Berücksichtigung der in dieser Zeitschrift gegebenen Bemerkungen und Erklärungen, in Bezug auf meine Untersuchungen die Sache in einer Weise darzustellen, wie sie für mich, der sich 3 Jahre lang mit dem Gegenstand beschäftigte, nicht sehr schmeichelhaft ist, und auch wahrlich nicht der These entspricht, die er verfechten will.

Ich lasse hier die fragliche Stelle folgen.

„In neuester Zeit hat besonders Rodella die Rolle der streng anaëroben Bakterien, teils der Buttersäurebacillen, teils der anaëroben Fäulnisbacillen, bei der Reifung der Hartkäse befürwortet. Dieser Ansicht ist nun manches entgegenzuhalten. Was erstens die Buttersäurebacillen anlangt, so ist ihre Betätigung am Reifungsprozeß durch die

1) Die Bakteriologie in der Milchwirtschaft. 3. Aufl. Jena (G. Fischer) 1906. p. 66 ff.



Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Digitized by Google

Crayondruck von J. B. Obernetter, München.

Original from
HARVARD UNIVERSITY

Untersuchungen Orla Jensens ganz unwahrscheinlich gemacht, indem dieser Forscher nachgewiesen hat, daß im Käse (abgesehen vom Schabzieger) keine Buttersäuregärung stattfindet. Die Buttersäure, die man im Käse findet, rührt lediglich von einer Fettspaltung her und nicht von einer durch Buttersäurebakterien hervorgerufenen Gärung. Was die anaëroben Fäulnisbakterien anlangt, so hat Rodella ihre Gegenwart im Käse nachgewiesen, aber verhältnismäßig nicht in größerer Zahl als in der Milch. Von einer Vermehrung derselben im Käse, was der Fall sein müßte, wenn sie die Erreger der Reifung wären, scheint daher keine Rede zu sein, und eine Beteiligung derselben bei der Reifung ist daher höchst fraglich. Ueberdies ist in zahlreichen Versuchen, in welchen die Milch vor dem Verkäsen mit *Paraplectrum foetidum* und anderen Buttersäurebakterien reichlich geimpft wurde, absolut keine Einwirkung dieser Mikroorganismen auf die Reifung zu Tage getreten.“

Vor allem scheint es mir, als ob v. Freudenreich sich nicht die Frage vorgelegt habe, welchen Begriff wir uns von der Buttersäuregärung im allgemeinen und von deren Bedeutung für die Käsereifung im besonderen zu bilden haben. In der 4. Mitteilung (diese Zeitschr. Bd. XII. 1904.) hatten wir Orla Jensen darauf aufmerksam gemacht, für die Buttersäuregärung nicht allein jene Anaërobien verantwortlich zu machen, die mit dieser Bezeichnung belegt werden, sie aber auch nicht auszuschließen, noch weniger ihre Tätigkeit in jenen Fällen, wo die chemische Analyse nicht das Vorhandensein von Buttersäure zu Tage fördert.

v. Freudenreich wiederholt eben jene von mir damals kritisierten Anschauungen, ohne sich jemals, soweit sich aus dem obenerwähnten Werke entnehmen läßt, die Mühe gegeben zu haben, die Buttersäuregärung und ihre Faktoren in der Milch und im Käse einem näheren Studium zu unterwerfen. So kommt es denn auch, daß, während zu Anfang der zitierten Stelle von „streng anaëroben Bakterien, teils der Buttersäurebacillen, teils der anaëroben Fäulnisbacillen“, die Rede ist, er am Schlusse von *Paraplectrum foetidum* und anderen Buttersäurebakterien spricht, und so, nach dem Zusammenhang wenigstens, eine einzige Bakteriengruppe daraus macht. Wenn letzteres auch zuweilen zutreffen kann, so scheint doch v. Freudenreich mit dieser Einräumung, wie man sieht, nicht recht konsequent zu sein.

Ich habe gezeigt, daß sich im Käse beständig die 2 Anaërobien vorfinden, die auf Grund der von Schattenfroh und Grassberger angestellten Studien als *Granulobacillus saccharobutyricus immobilis liquefaciens* und als *Granulobacillus saccharobutyricus mobilis non liquefaciens* bezeichnet werden. Da im Käse der Milchzucker sehr schnell verschwindet, weil er von unzähligen Bakterien angegriffen wird, ist eine energische Buttersäuregärung durch die Tätigkeit der 2 genannten Anaërobien, die Buttersäure aus der Gärung des Milchzuckers bilden, nicht zu erwarten.

Ich habe daher nie daran gedacht und noch weniger es jemals behauptet, daß die Betätigung dieser Mikroorganismen beim Reifungsprozeß der Käse von der im Käse selbst vorhandenen Buttersäuremenge hergeleitet werden könnte. Was ihre Aufgabe sei, ist nicht leicht festzustellen. Hierzu wäre das Studium ihrer Biologie in Kaseinböden nötig, die zuckerfrei, dagegen reich sind an verschiedenen flüchtigen und nichtflüchtigen Säuren und anderen Substanzen, die sich in den Käsen finden. Immerhin habe ich ihr beständiges Vorhandensein im Käse

nachgewiesen, und dies ist wohl von größerer Wichtigkeit, als die von v. Freudenreich aufgestellte Hypothese, daß diese Mikroorganismen im Käse ein latentes Leben zu führen haben.

Die Buttersäuregärung — hatte ich behauptet — hängt, wie aus unseren Untersuchungen hervorgeht, von einer anaerobischen Gärung des Kaseins ab; sie ist jedoch nicht die häufigste und gewöhnlichste Gärung; die von den sogenannten Fäulnisanaeroben der Milch bestimmt wird. Was die Behauptung v. Freudenreichs angeht, daß die Buttersäure, die man im Käse findet, lediglich von einer Fettspaltung herrühre und nicht von einer durch Buttersäurebakterien hervorgerufenen Gärung, so kann ich mir nicht denken, auf welche Tatsachen v. Freudenreich seine Ansicht gründet, noch weniger finde ich den logischen Nexus mit den vorhergehenden Zeilen der angezogenen Stelle. Ich schreite daher ohne weiteres zur Darlegung meiner Untersuchungen und der gewonnenen Resultate ¹⁾.

Wie ich schon anderen Orts erwähnt habe, reifte mir der Gedanke, die Fäulnisbacillen mit den Anaerobiern der Buttersäure zusammenzustellen und sie unter diesem Gesichtspunkte zu studieren, bei der Lektüre der Arbeiten von Grassberger und Schattenfroh, die den *Bacillus putrificus* Bienstock mit dem Namen fäulnisregender Buttersäurebacillus belegten.

Die von mir zum Studium der 'den bakteriellen Gärungen zukommenden fetten flüchtigen Säuren befolgte Methode war genau dieselbe, wie sie von Grassberger und Schattenfroh eingeschlagen worden war. Ich benützte Kulturen in Vollmilch, worin, wie bekannt, das Fett an der Oberfläche eine starke Schicht bildet und dadurch die Entwicklung von Anaerobiern ermöglicht, ohne daß zu anderen Vorkehrungen gegriffen werden müßte. Behufs Kontrolle der erzielten Resultate legte ich auch in vielen Fällen Kulturen in Magermilch an, die ich in ein hermetisch verschlossenes Glasgefäß brachte, das Pyrogallussäure in Kalilösung enthielt. Zu diesen Kulturen in Milch bediente ich mich kegelförmiger Gefäße von 2—4 l Inhalt mit sehr engem Halse und sehr breitem Boden.

Jedesmal, wenn ich zur chemischen Untersuchung der Kulturen schritt, vergewisserte ich mich, ob dieselben rein seien.

Hierauf filtrierte ich sie und setzte dem Filtrat pro Liter 40 ccm Phosphorsäure zu, letztere in der Proportion von 1 Teil Säure zu 2 Teilen Wasser.

Dem Rate der zwei Wiener Forscher folgend, benützte ich Phosphorsäure statt Schwefelsäure, um die Freimachung der Chlorwasserstoffsäure zu vermeiden.

Ich ließ die Flüssigkeit während der Nacht stehen. In der Folge ging ich an die Destillation im Wasserdampf, und zwar destillierte ich das gleiche Volumen, das sich im Destillierkolben befand.

Die Destillationsprodukte, die eventuell Alkohol und flüchtige Säuren enthalten konnten, wurden in einer gesättigten Lösung von kaustischem Baryt alkalisiert; der Ueberschuß von Baryt wurde durch Kohlensäure in Baryumkarbonat verwandelt.

Hierauf erfolgte eine weitere Destillation. Die ersten 200 ccm wurden besonders gehalten und die Destillation fortgesetzt, bis im Destillations-

1) Es sei hier bemerkt, daß die Stickstoffbestimmungen von Herrn Dr. G. Cornalba gemacht wurden, dessen vielseitige Unterstützung mir die Ausführung vorliegender Arbeit unter sehr ungünstigen Verhältnissen ermöglichte.

kolben nicht mehr als 200—400 ccm übrig blieben. Diese wurden filtriert und das Destillationsprodukt dann ins kochende Marienbad gesetzt, bis die Kristallisierung begann; der trockene Rückstand stellte die Baryumsalze der flüchtigen Säuren dar. Aus den Baryumsalzen der flüchtigen Säuren bildete ich die Silbersalze.

Bei diesen Untersuchungen bediente ich mich des der schönen Arbeit von Orla Jensen entnommenen Schemas:

| | 100 parties d'eau dissolvent à 20° | % d'argent |
|----------------------|------------------------------------|------------|
| Acétate d'argent | 1,037 | 64,67 |
| Propionate d'argent | 0,836 | 59,67 |
| Butyrate d'argent | 0,485 | 55,38 |
| Valérianate d'argent | 0,185 | 51,67 |
| Capronate d'argent | 0,078 | 48,43 |
| Caprylate d'argent | insoluble | 43,03 |

Ich nahm also die fraktionierte Fällung der Baryumsalze vor, unter Zuhilfenahme von Silbernitrat in normaler Lösung, und erzielte im Durchschnitt von jeder Kultur 6—8 Niederschläge. Das will sagen: Die Baryumsalze der flüchtigen Säuren in genügend konzentrierter Lösung wurden mit 1 ccm salpetersauren Silberoxyds gefällt, der Niederschlag wurde filtriert und die filtrierte Flüssigkeit neuerdings mit 1 ccm salpetersauren Silberoxyds gefällt, der Niederschlag hiervon wiederum gefällt und dies 6—8mal hintereinander.

Die Silbersalze, welche auf dem Filter geblieben waren, wurden im luftleeren Raum auf Schwefelsäure getrocknet.

Da nach der letzten Fällung sich zu wiederholten Malen eine opalisierende Trübung ergab, ohne daß sich mit dem Silbernitrat die Fällung erzielen ließ, wurde das Filtrat mit Schwefelsäure behandelt, destilliert, das Destillat mit kaustischem Baryt behandelt und dann mit Kohlen-säure neutralisiert.

Nun wurde neuerdings getrocknet und wiederum mit Silbernitrat gefällt.

Der erste Fäulnisanaërobe, von dessen Produkten ich die chemische Analyse vornahm, war jener, welcher von mir aus einem Gasabsceß isoliert worden war und von dem ich gegebenenorts (Centralblatt für Bakteriologie. Abt. I. Bd. XXXIII. 1903. No. 2) die morphologische Beschreibung geliefert habe (Fig. 1—3).

Die Kultur in Milch vom genannten Bacillus hat nach 4 Wochen zur Folge gehabt, daß das Kasein vollständig gelöst war, während das Fett ganz unverändert an der Oberfläche der Milch schwamm. Die Kultur hatte eine hellgrüne Farbe. Ihre Säure betrug, in NaOH $\frac{N}{10}$ ausgedrückt, 90 Proz.

Die Schwefelreaktion war negativ.

Der in der Kultur enthaltene Zucker betrug 4,70 Proz. lösliches Azot. 0,364 = gelöstes Kasein 2,32; Ammoniumazot. 0,112 = gelöstes Kasein 0,716. Von der Kultur meines mit diesen Eigenschaften ausgestatteten Gasbacillus destillierte ich 600 ccm in Wasserdampf und erhielt 1000 ccm Destillat, Die Säure des Destillats, in NaOH $\frac{N}{10}$ ausgedrückt, war 15 Proz.

Das Gesamtgewicht der Baryumsalze der flüchtigen Säuren dieses Bacillus ergab 2,16 g. Mit den Baryumsalzen bereitete ich in der oben angegebenen Weise die Silbersalze, wobei ich folgende Resultate gewann:

| | |
|-----------------|-----------|
| 1. Niederschlag | Ag. 54,05 |
| 2. " | " 54,96 |
| 3. " | " 55,40 |
| 4. " | " 55,17 |
| 5. " | " 54,00 |

Wir können also den Schluß ziehen, daß es sich um Buttersäure handelt. Die zu niedrige erste Ziffer ist der Unreinigkeit zuzuschreiben, die vom Niederschlag mitgenommen wurde. Das Gleiche kann von der letzten Ziffer angenommen werden, die auch bei den Untersuchungen von Orla Jensen immer Werte ergab, die unter den tatsächlichen standen. In diesem Falle, wie bei vielen anderen analogen Bacillen bin ich im Gegensatz zur Anschauung Achalmes der Meinung, daß sich nur eine flüchtige fette Säure entwickelt habe, und zwar die der Buttersäure. In der Tat bewegen sich nach anderen Bestimmungen die Unterschiede zwischen den zwei Ziffern der extremen Niederschläge gegenüber der Ziffer 55,38 des Silberbutyrats noch in engeren Grenzen. Achalme dagegen hält dafür, daß es sich bei allen Bacillen dieser Gruppe immer um ein Gemisch von Säuren handele, daß dieses Gemisch sich so ziemlich immer in denselben Proportionen bilde und sich im Durchschnitt aus 5 Teilen Essigsäure und 3 Teilen Buttersäure zusammensetze. Diese Mischung von flüchtigen fetten Säuren von hohem Molekulargewicht mit anderen von niedrigem Molekulargewicht konnte ich bei Experimenten beobachten, die sich auf ein Gemisch von Anaëroben unter sich oder von Aëroben und Anaëroben zusammen erstreckt hatten. Hiervon einige Beispiele:

Anaërobium α (wird weiter unten kurz beschrieben werden) + einige Fermente der Milchsäure + einige Heubacillen. Gesamtsäure des Filtrats dieser Milchkultur 60 Proz. Flüchtige Säure 30 Proz. — Ziffern die beim Kalzinieren der Silbersalze der flüchtigen Säuren zu Tage kamen:

| | |
|-----------------|-----------|
| 1. Niederschlag | Ag. 53,24 |
| 2. " | " 55,30 |
| 3. " | " 52,57 |
| 4. " | " 56,70 |
| 5. " | " 61,65 |
| 6. " | " 62,10 |

In diesem Falle sprechen sich, wie ersichtlich, die Ziffern klar für ein Gemisch von mehreren flüchtigen Säuren aus, wie es angesichts der unreinen Kultur zu erwarten war.

Ein anderes Beispiel:

Anaërobium δ + Bacillus subtilis + einige Schimmelpilze. Ziffern, die sich beim Kalzinieren der 3 Präzipitate der Silbersalze ergaben:

| | |
|-----------------|-----------|
| 1. Niederschlag | Ag. 50,40 |
| 2. " | " 55,28 |
| 3. " | " 58,82 |

Auch in diesem Falle haben wir ein Gemisch von Buttersäure und Propionsäure, wie es bei der Unreinheit der Kultur vorauszusehen war.

Damit will ich durchaus nicht irgend einem Zweifel Ausdruck geben, als ob Achalme und andere Autoren, die behauptet hatten, daß die Bildung eines Gemisches von flüchtigen Säuren infolge der Tätigkeit der Fäulnisanaëroben eine konstante Tatsache sei, mit unreinen Kulturen gearbeitet hätten.

Eine Erklärung hierfür läßt sich sehr leicht in der doppelten Gärung der Kohlehydrate und albuminoiden Substanzen finden, die zur Bildung eines Gemisches von flüchtigen Säuren geführt haben mochte. Entsprechende Beispiele haben wir in unseren Kulturen mehrmals konstatiert, wie die Ergebnisse beweisen, die wir hier darlegen wollen. Vor allem will ich bemerken, daß ich bei vielen Kulturen, die ich angelegt hatte, um mich zu vergewissern, ob der Milchzucker angegriffen werde oder

nicht, die Untersuchung nach der Methode vornahm, welche von den meisten Autoren und auch in einem jüngst erschienenen Artikel in der „Industrie laitière“ (10. Sept. 1905, No. 37) als die beste angesehen wird. Es ist dies die Methode von Fehling mit der Modifikation von Soxhlet und Allihn. Die Albuminoide müssen danach zuerst mit Bleiessig gefällt werden, dessen Exceß mittels Natriumkarbonat eliminiert wird.

Morphologische Eigentümlichkeiten der Fäulnis- anaërobien.

Da wir auf den Gegenstand ausführlich in einer Monographie über die Fäulnis und die Fäulnisanaërobien zurückkommen werden, können wir uns hier kurz fassen.

In erster Linie schicke ich voraus, daß, bei der großen morphologischen Variabilität der einzelnen Arten, alle unsere Kulturen, die hinsichtlich der biologischen Merkmale deutlich voneinander abwichen, eine bedeutende Aehnlichkeit in ihren morphologischen Charaktereigenschaften aufwiesen.

Sie waren alle sporenbildend. Die Sporen waren teils mittel-, teils endständig, in der Regel jedoch frei. Nicht sehr häufig konnte ich ovale oder länglich-ovale Sporen wahrnehmen, die ihre Lage mitten zwischen dem Zentrum und dem Ende des Stäbchens hatten. Einen Erklärungsgrund für das Auftreten dieser Formen kann ich nicht angeben. Lehmann und Neumann schreiben in ihrer Vorbemerkung zur speziellen Beschreibung des *B. tetani*, *B. Chavoei* und *B. oedematis maligni*, wie folgt:

„Abgeschwächte Kulturen sowie virulente Kulturen auf zuckerhaltigen Nährböden gezüchtet, bilden meist nur mittel- oder unvollkommene endständige Sporen von ovaler Form, die in die langgestreckte übergehen kann. Auf Blut und Blutserum ist die Sporenbildung bei allen 3 Arten endständig kugelig. Im allgemeinen schädigt Zucker und Glycerinegehalt der Nährböden die Sporenbildung bedeutend, sie bleibt oft sehr rasch aus. Diese Beeinflussung ist stärker bei Rauschbrand und malignem Oedem als bei Tetanus.“

Unsere Kulturen von Fäulnisanaërobien (und deshalb mit dem *B. tetani* wie auch mit dem *B. oedematis maligni* vergleichbar) waren vollständig avirulent, wenigstens alle jene, die wir aus der Milch und dem Käse isoliert haben. Das Merkmal der Virulenz konnte also bei diesen Untersuchungen nicht herangezogen werden.

Das Vorhandensein von Zucker war jedoch nicht von großer Bedeutung. Dies steht meiner Ansicht nach damit im Zusammenhang, daß die fäulnisserregenden Anaërobien, die wir aus der Milch und dem Käse isoliert hatten, den Zucker schlecht vergärten, welcher letzterer von vielen überhaupt gar nicht angegriffen wurde. Wir können nur so viel sagen, daß die von Bienstock der Trommelschlägerform seines *B. putrificus* zugeschriebene Bedeutung nicht aufrecht zu erhalten ist, einerseits weil sie vielen anderen Anaërobien außerordentlich eigen ist, andererseits weil sie bei den Fäulnisanaërobien, den Bienstockschen inbegriffen, nicht die am häufigsten auftretende Form ist.

Auch die Granulosebildung ist bei dieser Klasse von Mikroorganismen nicht sehr häufig und auch nicht sehr leicht zu erzielen. Es gelang mir einigemal in stark alkalischen Böden, so z. B. im Nährboden von Achalme und Passini (gekochtes Eiereiweiß oder koaguliertes Blutserum), dem ich 1 Proz. Natriumhydrat beigegeben hatte.

Auch auf eine andere Erscheinung, die fast allen meinen Fäulnisanaerobien gemein ist, möchte ich hier die Aufmerksamkeit lenken. In den Gruberschen Röhrchen mit Würfeln von bei 100° koagulierten und dann bei 125° mit dem 10-fachen Volumen gewöhnlichen Wassers sterilisiertem Blutserum, in denen nach Einimpfung meiner Fäulnisanaerobien ein möglichst luftleerer Raum hergestellt worden war, ließ sich nach 2—3-wöchigem Aufenthalt im Thermostaten das Auftreten eines schönen schwarzen Pigments wahrnehmen. Behielt ich sie dann 3—5 Monate lang in der gewöhnlichen Zimmertemperatur, so konnte in vielen derselben eine sonderbare Erscheinung beobachtet werden. Der Boden des Röhrchens war von einem schwärzlichen Satz bedeckt, über dem eine dichte Schicht von braungrauer Farbe stand. An den Wänden des Röhrchens hingen über dem Satz prächtige Kristalle von Tyrosin und Leucin, wie sie Fig 4 vorführt.

Ich wäre nicht abgeneigt, anzunehmen, daß die Schwarzbraunfärbung, die von den Fäulnisanaerobien herrührt, vielleicht der Tätigkeit einer „Tyrosinase“ zuzuschreiben sei.

Obgleich auf die morphologischen Eigenschaften bei dieser Anaerobien-gruppe sehr wenig Gewicht zu legen ist, will ich doch gegenüber den Resultaten der biochemischen Untersuchungen die wenigen mikroskopischen und kulturellen Momente anführen, die mir interessant erscheinen :

a) *Bacillus anaërobicus* der Capronsäuregruppe.

Unter dem Mikroskop zeigen sich lange Ketten von Bacillen mit viereckigen Rändern in der Länge von 3—8 μ . Manchmal haben die sehr kleinen Bacillen eine ovale Form und nehmen, zu Ketten vereinigt, fast das Bild von Sporenketten, an. Die langen Bacillen sind sehr beweglich, während die anderen unbeweglich sind. Es erfolgt keine Abfärbung mit der Methode von Gram.

Dieser Mikroorganismus erinnert sehr an die *Thyrotrix catenula* von Duclaux. In verschiedenen Nährböden kommen jedoch fast ausschließlich vereinzelte Individuen vor.

Kulturen in Gelatine. Was am meisten auffällt, ist das abweichende Vermögen, die Gelatine zu peptonifizieren, bei ein und demselben Individuum dieser Gruppe. Während einigemal 5—6 Tage ausreichen, um durch wenige Kolonien den unteren Teil des Gelatineröhrchens vollständig zu verflüssigen, waren in anderen Fällen Wochen nötig, um dieses Resultat zu erzielen.

Die äußere Erscheinung der in den Gelatineröhrchen isolierten Kolonien ist, wie aus den Figuren ersichtlich, sehr verschieden (Fig. 5, 8, 9).

Einige haben die Form eines Eies oder einer Birne und enthalten eine trübe Flüssigkeit, die von der verflüssigten Gelatine herrührt. Im untersten Teil der Blase zeigt sich eine Ansammlung von Niederschlag.

In anderen Fällen wieder geht die Verflüssigung der Gelatine in vollständig kugelförmiger Form vor sich, da hierbei Gasentwicklung in Frage kommt. Figur 5 zeigt ein schönes Beispiel davon; die Blase auf dem Grunde des Röhrchens ist voller Flüssigkeit, welche letztere an ihrem oberen Teile einige Bläschen Gas aufsteigen läßt.

In anderen Fällen wieder ergeben sich Kugeln von verflüssigter Gelatine, von denen sich dicke Verlängerungen abzweigen, die, im Profil gesehen, ziemlich an die Form des Gänseblümchens erinnern.

Auffällig ist in den Gelatinekulturen der wenig angenehme Geruch des verflüssigten Substrates.

Kolonieen in gezuckertem Agar. Wenngleich sich dieser Bacillus auch in gewöhnlichem Agar gut entwickelt, haben wir uns doch vorzugsweise des Agars mit 1 Proz. Glykose bedient, wie es unser System für die Untersuchung aller anaëroben Mikroorganismen ist. Ein Unterschied im Wachstum der Bacillen der Capronsäuregruppe in gewöhnlichem und gezuckertem Agar läßt sich übrigens nicht bemerken. — Es zeigen sich granulöse, wenig kompakte, runde oder rundliche Kulturen, die teilweise das Aussehen eines Sternes haben und wenig umschrieben sind. Nie treten jedoch jene Kulturen mit verworrenen Verästelungen an den Verlängerungen auf, wie sie bei anderen Vertretern von Fäulnisanaëroben angetroffen werden.

In den Agarkulturen entwickelt sich im allgemeinen wenig Gas und nur in großen isolierten Blasen; bisweilen fehlt es ganz und gar. Der Geruch ist widrig, wenn auch weniger penetrant als in Gelatinekulturen. — Im allgemeinen sind die flüssigen Nährböden oder die, welche durch die Tätigkeit dieser Bakterien zu solchen geschaffen wurden, am meisten übelriechend.

Kulturen in Bouillon. Bedeutend charakteristischer als die Kulturen in Agar sind die Kulturen in Bouillon. Agar mit Glykose oder Milchzucker im Verhältnis von 1 Proz. zur gewöhnlichen Bouillon gegeben, beeinflußt die Entwicklung dieser Bakteriengruppe nicht und verändert in keiner Weise das Aussehen der Kulturen. Auch die Zugabe von $\frac{1}{2}$ —1 Proz. Essig- oder Milchsäure zur gewöhnlichen Bouillon übt keine bemerkenswerte Wirkung aus, weder auf das Wachstum der Bacillen noch auf das Aussehen der Kulturen. Nur der Geruch scheint in diesem Falle bedeutend schwächer zu sein. Der bedeutende Widerstand dieser Bacillen gegen entschieden saure Böden fällt natürlich hinsichtlich ihrer Teilnahme am Reifungsprozesse der Käse sehr ins Gewicht.

In der Bouillon bilden die Bacillen der Capronsäure einen konsistenten dichten Schleier, der sich vom Boden des Röhrchens bis ungefähr 1 cm von der Oberfläche der Flüssigkeit ausdehnt. Dieser Schleier haftet gleichsam an den Wänden der Versuchsgläser; mit der Platinöse läßt er sich in lange Fäden ziehen, ähnlich wie beim Granakäse in der Suppe. Bringt man mit der Platinöse ein wenig von diesem Material auf ein Uhrglas oder Deckglas, um es aufzulösen, so gelingt es nur sehr schwer, eine gleichmäßige Emulsion zu erzielen.

Die Bouillon bleibt stets vollständig klar. Die Gasbildung ist nie konstant, noch weniger reichlich.

Der Geruch der Bouillonkulturen ist unangenehm; doch selbst wenn er intensiv und penetrant ist, weicht er von jenem ab, der von den sogenannten Fäkalbacillen (*B. coli* etc.) hervorgerufen wird.

In der Regel zeigt sich saure Reaktion.

Kulturen in Milch. Die Anaëroben der Capronsäuregruppe, wie übrigens alle Vertreter der Gruppe der sogenannten Fäulnisanaëroben, entwickeln sich auch gut in Anaërobiose in Vollmilchkulturen, falls nur darauf Acht gegeben wird, daß die Fettschicht auf der Oberfläche genügend hoch ist, um die Tätigkeit des atmosphärischen Sauerstoffs gehörig entwickeln zu lassen. Man glaube aber nicht, daß sich die Kulturen jederzeit mit Leichtigkeit erzielen lassen, auch wenn man immer die gleiche Technik der Abimpfung anwendet, die bei mir in folgendem besteht: In den heißen (nie über 80°) Milchkolben setze ich die ganze Agarkolonie einer entwickelten Kultur der fraglichen Anaëroben

ein. Um den Agar aus dem Versuchsglas hinabzubringen, sterilisiere ich den unteren Teil mit 2-proz. Sublimat, wasche gut mit Alkohol und erhitze an der Flamme unter beständigem Umdrehen. Dann breche ich mit einem glühenden Eisen den Boden los und lasse die Agarschicht, die sich infolge der Hitze von den Wänden des Röhrchens losgelöst hat, gegen die Mündung des Reagenzglases gleiten, die an der Flamme sorgfältig sterilisiert wird. Die ganze Agarschicht steigt so in die Milch hinab, durchbricht die Fettschicht und lagert sich unterhalb derselben.

Selbst bei konstanter Anwendung dieser Technik hatte ich Mißerfolge, d. h. die Kulturen blieben steril. In vielen Fällen fand ich nicht die geringste Erklärung für die Erscheinung; in anderen Fällen glaubte ich das Folgende annehmen zu müssen: Wenn im Agar die schönen runden dicken Kolonien auftreten, die von einer Ansammlung schöner, gleichförmiger, runder Punkte gebildet sind, dann gelingt die Umimpfung gut und leicht. Die Kolonien in Agar von derartigem Aussehen scheinen fast ausschließlich von Sporen zusammengesetzt zu sein, die nur mit einigen Bacillen untermischt sind. Hat man aber sternförmige, kleine, unregelmäßige Kolonien vor sich, dann ist die Umimpfung viel schwerer zu erzielen. Die mikroskopischen Präparate, die von solchen Agarkulturen gemacht wurden, zeigten ein bedeutendes Uebergewicht von bacillaren Formen. Ich glaube demnach, daß die größere Leichtigkeit der Umimpfung nicht nur mit der Anwesenheit einer größeren Anzahl von Sporen, sondern auch mit dem stärkeren sporenbildenden Vermögen der fraglichen Kulturen im Zusammenhange steht.

Die Entwicklung der fraglichen Bacillen der Capronsäure geht in der Milch bei einer Temperatur von 37° innerhalb 24—28 Stunden vor sich. Nach diesem Zeitpunkt nimmt die Milch allmählich ein schleimiges Aussehen an, ähnlich dem, das sie durch Hinzufügung von Labferment erfährt. In der Folge beginnt die Fettschicht infolge der Bildung von Gas, das in der Regel in großen Blasen aufsteigt, ein höckeriges Aussehen anzunehmen.

Sehr selten jedoch geschah es, daß die Gärung des Kaseins so heftig war, daß die Fettschicht vollständig durchbrochen wurde.

Nach Verlauf von ungefähr 4—6 Tagen war das Kasein koaguliert und vom Milchserum abgeschieden. Das Gerinnsel war indes sehr verschieden von jenem, das nach einer lebhaften Milchgärung entsteht, wobei das Kasein in dichter Ansammlung, von großen Maschen durchbrochen, zusammenläuft. Unsere Anaerobien bilden dagegen ein feinschaumiges Gerinnsel, das durchaus nicht kompakt ist, sondern vielmehr Neigung hat, sich zu zerteilen, und zwar in staubige Substanz. Beim ersten Anblicke hätte man schon infolge des besonderen Aussehens des Kaseins, das ganz verändert war, das Gerinnsel der fraglichen Kulturen von dem unterscheiden können, das von nicht flüchtigen organischen Säuren oder von flüchtigen Säuren mit niedrigerem Molekulargewicht herrührt.

Nach Verlauf von 15—20 Tagen war jedoch dieses Gerinnsel vollständig verschwunden und die Kultur zeigte sich als eine von der unveränderten Fettschicht bedeckte Flüssigkeit von wechselnder Farbe. Ich sagte „von wechselnder Farbe“, und in der Tat sind die Veränderungen in diesem Punkte zu augenfällig, um sie nur einer abweichenden Sterilisierung der Milch oder anderen zufälligen Ursachen zuschreiben zu können. Es ist ja klar, daß eine zu lang ausgedehnte, oder eine bei zu hoher Temperatur vorgenommene Sterilisierung, die sowohl zu anderen Veränderungen, wie sie hauptsächlich in letzter Zeit von Orla

Jensen¹⁾ studiert wurden, als auch zu einer Bräunung der Milch führt, Einfluß auf die Farbe der Kultur selbst haben kann. Wir sind jedoch der Ansicht, daß auch andere Faktoren hier im Spiel sind und unter diesen auch die verschiedene Form des Behälters, da eine solche mit sehr langem und engem Halse eine vollkommene Anaërobie gestattet. Wie dem auch sei, die Farbe unserer Kulturen wechselte von sehr blassem verschossenen Strohgelb zu grellem Rotgelb.

Interessant sind auch die Veränderungen, denen die Agarschicht unterworfen ist, die in den Milchkolben zwecks Impfung eingeführt wird. In den ersten Tagen schwimmt sie, wie schon erwähnt, unter der Fettschicht, sinkt dann zu Boden und wechselt die Farbe, wobei sie ein schmutzig-weißes, ziemlich transparentes Aussehen annimmt, das große Aehnlichkeit mit Alabaster hat.

Der Geruch dieser Kulturen ist niemals angenehm, zumal er sehr intensiv ist. Wenn eine dieser Kulturen in Milch (2 l) ganz offen gelassen wurde, so verbreitete sich der Gestank durch das ganze Laboratorium.

Ich lasse die Ergebnisse der chemischen Analyse, die ich von einigen Kulturen in Milch der Bacillen der Capronsäure angestellt habe, hier folgen, indem ich mir eine eingehendere Behandlung dieser Frage in meiner Monographie über die Fäulnis vorbehalte.

Die Kulturen in Milch wiesen insgesamt saure Reaktion auf.

Eine Kultur ergab z. B. in $\text{NaOH} \frac{N}{10}$ normal 40 Proz., obgleich der Zucker ganz und gar unverändert war, wie die chemische Analyse dartat.

Die Destillation der Kultur wurde nach der bereits erwähnten Anweisung von Grassberger und Schattenfroh ausgeführt. Das Destillat wies eine Säure von 26 Proz. in $\text{NaOH} \frac{1}{10}$ normal auf.

Die Resultate der in der angegebenen Weise vorgenommenen fraktionierten Fällung sind in den folgenden Ziffern wiedergegeben, die das Gewicht der sorgfältig kalzinierten Silbersalze ausdrücken:

| | | |
|-----------------|-----|-------|
| 1. Niederschlag | Ag. | 48,27 |
| 2. " | " | 48,06 |
| 3. " | " | 48,53 |
| 4. " | " | 48,33 |
| 5. " | " | 48,00 |
| 6. " | " | 48,50 |
| 7. " | " | 49,00 |

Eine andere Kultur, die eine schöne hellgelbe Färbung aufwies (bei der vorhergehenden war diese intensiv rotgelb) zeigte die folgenden chemischen Eigenschaften:

Saure Reaktion mit einer Säure in $\text{NaOH} \frac{N}{10}$ N. von 60 Proz.

Destillierte Kultur 800 ccm, aufgefangenes Destillat 800 ccm. Säure des Destillats in $\text{NaOH} \frac{N}{10}$.

Gesamtgewicht der Baryumsalze der flüchtigen Säuren 3,450 g.

Die Kalzination der mit der gewöhnlichen Methode erzielten Silbersalze ergab folgende Resultate:

| | | |
|-----------------|-----|-------|
| 1. Niederschlag | Ag. | 48,86 |
| 2. " | " | 48,56 |
| 3. " | " | 48,66 |
| 4. " | " | 48,69 |
| 5. " | " | 48,79 |
| 6. " | " | 59,30 |

Die Wiedergabe der übrigen Resultate unterlasse ich, da sie alle ähnlich sind.

1) Landwirtschaftliches Jahrbuch der Schweiz. 1904.

Ich will aber noch anführen, daß die Schwefelwasserstoffbildung in der Milch wechselnd und nie stark ist. Von den zwei oben erwähnten Kulturen war bei der ersten das Resultat negativ, während bei der zweiten nur Spuren hiervon zu bemerken waren.

Kulturen auf Kartoffeln. Mir ist es nie gelungen, ein, wenn auch nur kärgliches Wachstum dieser Bacillen auf der Oberfläche von Kartoffeln zu erzielen. Eine schwache Entwicklung lies sich indes in glycerinisiertem Wasser beobachten, das ich den Reagenzgläsern mit den Kartoffeln beigegeben hatte, um sie vor Austrocknung zu bewahren.

Kulturen in Blutserum. Wie bereits anderen Orts mitgeteilt, wird das gestockte Blutserum von diesen Bacillen vollständig verflüssigt. Diese Verflüssigung greift sofort im unteren Teil des Röhrchens Platz, wo das Kondenswasser ist, während sie im oberen Teile nur langsam vor sich geht. Die Bildung eines schwarzen Pigmentes konnte auch in dieser Kultur beobachtet werden; sie nimmt indes einen trägen Fortgang. Der Geruch derselben ist widrig, doch sehr verschieden von dem der Kulturen in Milch.

Die Klasse der von mir eben beschriebenen Mikroorganismen ist wohl unter den Anaëroben die in den Käsen am häufigsten vorkommende, insbesondere im Granakäse, im Käse von Asiago, im alten „Provolone“ und im „Caciocavallo“.

Es kommen allerdings darin auch andere Fäulnisanaëroben vor, die in Hinsicht auf die morphologischen wie kulturellen Charaktereigenschaften den vorgenannten sehr ähnlich sind, aber zu anderen Gärungen der Albuminstoffe Veranlassung geben.

Außer bei den obenerwähnten Käsearten habe ich diese Fäulnisanaëroben in Weichkäsen angetroffen, die ich im hygienischen Institut der Universität Zürich untersuchte, nämlich im Backstein, Allgäuer und Tilsiter.

Die morphologischen Eigentümlichkeiten dieser Bacillen, die ich als Fäulnisanaëroben der Baldriansäure bezeichnen möchte, sind in kurzem folgende:

Unter dem Mikroskop gut umschriebene bacillare Formen oder Sporen. Nie beobachtete ich die rundlichen Formen an langen Ketten, wie bei der vorhergehenden Gruppe. In Bezug auf Beweglichkeit, Färbung etc. zeigt sich gegenüber der letzteren kein Unterschied.

Agarstich. Die Entwicklung geht 1—2 cm unter der Oberfläche vor sich. Die einzelnen Kolonien sind am Rande des Stiches sichtbar und sind sehr leicht an ihrem watteähnlichen Aussehen zu erkennen. Im flüssig geimpften und nachher erstarrten Agar zeigen die Kolonien im Vergleich zu denen der vorhergehenden Gruppe größere Neigung zu untereinander verschlungenen Verlängerungen.

Bouillon. In 2 Tagen Trübung mit reichlichem Bodensatz. Die Gasbildung ist immer kärglich.

Milch wird binnen 6—8 Tagen bei 37° vollständig peptonisiert. Die Peptonisierung nimmt ihren Anfang immer an den oberen Partien, d. h. unmittelbar unter der Milchsicht. Auch in diesem Falle geht, wie bei den Bacillen der Capronsäure, der Peptonisierung nicht eine wirkliche und eigentliche Gerinnung des Kaseins der Milch voraus. Sowohl die Bacillen der Capronsäure wie jene der Baldriansäure können die Peptonisierung der Milch bewerkstelligen, ohne daß letztere überhaupt geronnen wäre.

Findet jedoch Koagulation statt, dann ist das Gerinnsel etwas kompakter, wenn es von Anaëroben der Baldriansäure herrührt, als wenn jene der Capronsäure im Spiele sind. Im allgemeinen kann man sagen, daß Gerinnung stattfindet, wenn die Kaseingärung sehr rasch vor sich geht, d. h. wenn sich schnell eine Menge flüchtiger Säuren gebildet hat, bevor also die tryptischen Diastasen im stande waren, das Kasein selbst zu zersetzen oder wenn wir Koagulation des Kaseins in Masse ohne Abscheidung des Milchserums vor uns haben, falls diese Koagulation des Kaseins infolge der Tätigkeit des Labfermentes auftritt.

Wie ersichtlich, sind die gegenwärtigen Unterscheidungsmerkmale für die Bacillen der Capronsäure und der Anaëroben der Baldriansäure wenig und unbestimmt. Nur die chemische Analyse kann uns einen definitiven Maßstab für die genaue Differenzierung liefern.

In vielen Fällen mag das Studium der flüchtigen fetten Säuren hinreichend sein, die sich in den Kulturen in Milch gebildet haben, falls man dieselben mit dem Milchzucker, dem Fette und dem Kasein in Zusammenhang bringt. Wenn das Fett oder der Milchzucker unverändert geblieben sind, dann liefert uns die qualitative Bestimmung der flüchtigen fetten Säuren allein schon ein ausreichendes Kriterium zur Klassifizierung dieser Bacillen. So war in unserem Falle, wo der Milchzucker und das Fett keine Veränderungen erlitten hatten, die chemische Untersuchung der flüchtigen Säuren genügend, um die Klasse der Mikroorganismen festzustellen.

Im folgenden gebe ich die Resultate wieder, die ich bei der Destillation meiner Kulturen in Milch gewonnen habe.

Auch in diesen Fällen wurden aus den Baryumsalzen durch die fraktionierte Fällung die Silbersalze dargestellt.

Eine Kultur, die vom Granakäse herrührte, ergab beim

| | | |
|-----------------|-----|-------|
| 1. Niederschlag | Ag. | 50,90 |
| 2. " | " | 51,15 |
| 3. " | " | 51,40 |
| 4. " | " | 51,50 |
| 5. " | " | 51,40 |
| 6. " | " | 51,20 |
| 7. " | " | 52,50 |
| 8. " | " | 50,00 |
| 9. " | " | 48,00 |

Eine andere, aus Marktmilch isolierte, Kultur zeigte beim

| | | |
|-----------------|-----|-------|
| 1. Niederschlag | Ag. | 51,50 |
| 2. " | " | 51,60 |
| 3. " | " | 52,10 |
| 4. " | " | 51,20 |
| 5. " | " | 51,00 |
| 6. " | " | 50,10 |

Eine dritte, ebenfalls aus Marktmilch (Rom) isolierte Kultur wies auf beim

| | | |
|-----------------|-----|-------|
| 1. Niederschlag | Ag. | 49,50 |
| 2. " | " | 51,10 |
| 3. " | " | 51,60 |
| 4. " | " | 51,40 |
| 5. " | " | 50,80 |
| 6. " | " | 50,00 |

Auch bei diesen Untersuchungen über die Mikroorganismen der Valeriansäure gelang es mir, die wirklich genauen Ziffern zu erzielen, wie sie sich aus dem Verhältnis vom metallischen Silber zu seinen Salzen ergeben. Insbesondere die letzte Fällung erwies sich in erhöhtem Grade als unrein. Dies kann vielleicht einer leichten Spaltung des

Milchfettes zugeschrieben werden, einer Spaltung jedoch, die nur Spuren von flüchtigen fetten Säuren hinterlassen konnte, wie ich mich immer sorgfältig mittels Destillation vergewisserte.

Wir geben hier beispielsweise die übrigen Daten der chemischen Analyse von einem dieser Bacillen der Baldriansäure in 4-wöchiger Kultur in Milch:

Flüssigkeit der Kultur opalartig gelb.

Saure Reaktion. Säure des Filtrats 70 Proz., ausgedrückt in $\text{NaOH} \frac{\text{N}}{10}$. Keine Schwefelwasserstoffbildung. — Zucker in den Kulturen 3,41 Proz. Lösliches Azot 0,455 Proz. Ammoniakazot 0,179. — Azot der Zersetzungsprodukte 0,276 Proz. Säure des Destillats = 40 Proz. in $\text{NaOH} \frac{\text{N}}{10}$.

Wir kommen nun zur 3. Gruppe der Fäulnisanaerobien, nämlich der Anaerobien der Buttersäure. Diese sind in allen Käsen sehr häufig, während dies von den Anaerobien der Baldriansäure nicht gesagt werden kann, die aber auch, soweit sich aus meinen Untersuchungen ableiten läßt, zur Reifung der Hartkäse nicht viel beizutragen scheinen.

Wenn eine lediglich auf die morphologischen und kulturellen Eigenschaften begründete Unterscheidung zwischen den Anaerobien der Capronsäure und der Baldriansäure schwer und vielleicht sogar unmöglich ist, so trifft dies auf die Anaerobien der Buttersäure noch mehr zu.

Die Eigenschaft, Buttersäure zu entwickeln, sei es nun durch die Gärung der Kohlehydrate oder durch die Kaseingärung, ist sehr vielen Aerobien und Anaerobien gemein und bietet daher, zum Unterschied von jenen der Capronsäure, dieses Merkmal allein nicht genügende Aufklärung über die systematische Einreihung der Bacillen der Buttersäure.

Die Varietäten von Anaerobien, die als flüchtige Säuren bei der Zersetzung der Albuminstoffe nur Buttersäure entwickeln, sind indes nicht zahlreich.

Wenn irgend ein Merkmal zur Erkennung dieser Klasse Wert haben kann, so ergibt es sich aus den Kulturen in Milch. In diesen ist das Gerinnsel kompakter als bei der vorher erwähnten Anaerobienklasse und bildet sich auch häufiger. Die Farbe des Milchserums ist mehr hellgelb. Bei vollständiger Auflösung des Kaseins tritt nie jene intensive goldgelbe Färbung auf, die bei den Kulturen der Capronsäure beobachtet wird. Doch sind das alles, wie schon anderen Orts erwähnt, Merkmale, auf die man sich nicht sehr verlassen kann.

Ich habe mich trotzdem bei den makroskopischen Eigentümlichkeiten der Kulturen in Milch aufgehalten, und um die Bedeutung des makroskopischen Aussehens meiner Kulturen besser zu beurteilen, habe ich auch Versuche mit frischer Milch angestellt, der ich eine bestimmte Menge von flüchtigen fetten Säuren zugegeben hatte. Bei diesen Experimenten erwiesen sich die Säuren mit niedrigerem Molekulargewicht als die energischeren.

Fügte ich z. B. einem Milchvolumen von 250 ccm bis zu 3 ccm reine Capronsäure hinzu, so blieb die Milch unverändert, während bekanntlich das gleiche Quantum Buttersäure die Fällung der Milch hervorruft.

Ich stellte auch die 5 Behälter, welche je 250 ccm Milch enthielten, in eine Reihe und machte nach Hinzufügung der fetten Säuren den Vergleich; der erste Behälter war für die Beimischung von Capronsäure bestimmt, der zweite für Baldriansäure, der dritte für Buttersäure, der

vierte für Essigsäure und der fünfte für Ameisensäure. Das Gerinnsel der Milch, das nach Beimischung der fetten Säuren erfolgte, wies eine besondere Physiognomie auf, wie auch das Milchserum, das sich vom Gerinnsel selbst abschied. Angesichts der großen Leichtigkeit, womit diese Experimente von jedermann wiederholt werden können, übergehe ich deren Beschreibung. Was die Ursachen der verschiedenen Fällbarkeit des Kaseïns bei den einzelnen Säuren betrifft, so hatte ich geglaubt, sie wenigstens zum Teil auf die verschiedene Löslichkeit der Säure selbst in Milch zurückführen zu müssen; dies trifft zum Teil zu und ist übrigens auch allgemein bekannt. Indes bewirkte die Capronsäure, auch bei sorgfältigster Mischung der Milch, keine Gerinnung, obwohl sie in demselben Verhältnis hinzugefügt worden war, in welchem beispielsweise die Buttersäure sofort eine Fällung des Kaseïns herbeiführte. Man muß deshalb annehmen, daß bei diesen Säuren eine verschiedene Wirkung, ein verschiedenes Vermögen gegenüber der chemischen Struktur der Milch in Frage kommt. Mit anderen Worten: Die Säure, wie sie gegenwärtig auf Grund der neutralisierenden Tätigkeit von Soda ausgedrückt wird, kann uns keinerlei Maßstab bei unseren Untersuchungen abgeben.

Dies ist von großer Wichtigkeit für die Technik der Käsebereitung, und ich werde mich in einer meiner nächsten Veröffentlichungen eingehend damit befassen. Die gegenwärtige Arbeit hat nur den Zweck, mit den spezifischen anaëroben Agentien der Capron-, Baldrian- und Buttersäuregärung der Eiweißstoffe bekannt zu machen. In meiner Monographie „Ueber die Fäulnis“ werde ich nicht nur auf die eben erwähnten drei Gärungen zurückkommen, sondern auch auf die gemischten anaërobischen Gärungen zu sprechen kommen, die sowohl auf die Eiweißstoffe wie auch auf die Kohlehydrate ihre Wirkung ausüben. Der Umfang und die Bedeutung dieser Frage wird, so hoffe ich zuversichtlich, die Forscher veranlassen, mir ihre Mithilfe angedeihen zu lassen, denn derartige Untersuchungen lassen sich schwerlich von einem allein zu Ende führen. Was die ausschließlichen Gärungen der Eiweißstoffe infolge der Tätigkeit der Anaërobien der Capron- und Buttersäure betrifft, so ist das Versuchsmaterial leicht zu beschaffen, da, wie gesagt, dies die in Hartkäsen, wie „Grana“, „Provoloni“ und „Asiagokäse“ am häufigsten vorkommenden Anaërobien sind. Wenn es ebenso leicht ist, ein Mischanaërobium der Baldriansäure zu isolieren, d. h. ein Anaërobium, das infolge der gleichzeitigen Gärung des Kaseïns und der Kohlehydrate die Bildung jener Säure veranlaßt, so kann von einem einfachen anaërobischen Ferment, das diese Eigentümlichkeit besitzt, das heißt, das infolge der Zersetzung der Eiweißstoffe allein schon in Reinkultur Baldriansäure zu entwickeln im stande wäre, nicht dasselbe gesagt werden.

Gerade diese einfachen anaërobischen Fermente (im Sinne von Tissier und Gasching) sind es, denen wir gegenwärtig unsere besondere Aufmerksamkeit widmen.

Zum Schlusse geben wir hier die Analyse von 3 einfachen peptolytischen Anaërobien der Buttersäure, die aus dem Granakäse isoliert wurden.

| | Stamm a | Stamm b | Stamm c |
|-----------------|---------|---------|---------|
| 1. Niederschlag | 54,70 | 52,90 | 54,27 |
| 2. „ | 55,00 | 54,10 | 55,16 |
| 3. „ | 55,16 | 54,76 | 55,24 |
| 4. „ | 55,70 | 54,90 | 55,70 |
| 5. „ | 53,90 | 55,30 | 54,90 |
| 6. „ | 54,00 | 55,00 | 52,66 |

Diese Kulturen wurden, wie gewöhnlich, in sterilisierter Milch angelegt und 4 Wochen lang in Brutschranktemperatur gehalten.

Wir bemerken hier, daß die Entwicklung von Buttersäure durch die Tätigkeit dieser Anaëroben unter einhergehender Zersetzung des Kaseïns quantitativ sicherlich nicht mit jener verglichen werden kann, die infolge der Wirkung einer starken Buttersäuregärung der Kohlehydrate Platz greift. Und dies ist der Grund, weshalb Orla Jensen bei vielen Käsen die Buttersäuregärung ausschließen zu können glaubte, wobei er vielleicht nur an die von Schattenfroh und Grassberger in letzter Zeit studierte Gärung dachte.

Außer den oben angeführten Aufgaben behalte ich mir für die nächsten Veröffentlichungen noch das Studium der anaërobischen Protonsäuregärung vor.

Tafelerklärung.

Fig. 1. 5-tägige Reinkultur des Bacillus des Gasabscesses in flüssig geimpftem Agar.

Fig. 2. 5-tägige Agarstichkultur desselben Bacillus.

Fig. 3. 3-tägige flüssig geimpfte Gelatinereinkultur desselben Bacillus. (Der Bacillus gehört zu den Fäulnisanaëroben der Buttersäuregruppe.)

Fig. 4. Bildung von Leucin- und Tyrosinkristallen in einer 5 Monate alten Kultur nach Achalmé. Die Kristalle sind an den Wandungen des Röhrchens haften geblieben. Es braucht einen ziemlich heftigen Stoß, damit sie auf den Boden fallen. Der Bodensatz ist grau-schwarz, die Flüssigkeit, wo die Kristalle liegen, ist hellgrau.

Fig. 5. 8-tägige flüssig geimpfte Gelatinereinkultur eines Bacillus der Capronsäuregruppe.

Fig. 6. 6-tägige flüssig geimpfte Agarreinkultur desselben Bacillus wie in Fig. 5.

Fig. 7. 8-tägige Gelatinereinkultur eines Bacillus der Capronsäuregruppe (Stamm II).

Fig. 8. 8-tägige Gelatinereinkultur eines Anaëroben der Buttersäuregruppe (reiner Eiweißvergärer).

Fig. 9. 5-tägige Gelatinereinkultur eines Anaëroben der Capronsäuregruppe (Stamm III).

Nachdruck verboten.

Zur Priorität der Methode der Käseuntersuchung durch mikroskopische Schnittpräparate.

Von Prof. Dr. C. Gorini aus Mailand.

In Bd. XV p. 430 dieser Zeitschrift verteidigt Frau Gerda Troili-Petersson die Originalität ihrer Idee, den Käse durch gehärtete und gefärbte Schnittpräparate zu mikroskopieren.

Ich kann nichts entgegenen, denn die deutsche Uebersetzung meiner Arbeit „Ueber die Verteilung der Bakterien im italienischen Granakäse“ in diesem Centralblatt ist in der Tat nach ihrer Arbeit „Studien über die Mikroorganismen des schwedischen Güterkäses“ veröffentlicht worden.

Andererseits aber kann ich auch nicht auf die Originalität meiner Idee verzichten, die ich unabhängig von ihr gehabt habe, wie man aus dem Datum (15. November 1903) meiner im R. Istituto Lombardo di Scienze e Lettere von Mailand vorgetragenen Arbeit ersehen kann.

Daher darf es Frau Troili-Petersson nicht unangenehm sein, die Priorität der obengenannten Methode mit mir zu teilen, wie ich bereits von selbst mit Vergnügen bei der Anmerkung zu der deutschen Uebersetzung meiner Arbeit anerkannt hatte.



Fig. 1.



Fig. 2.

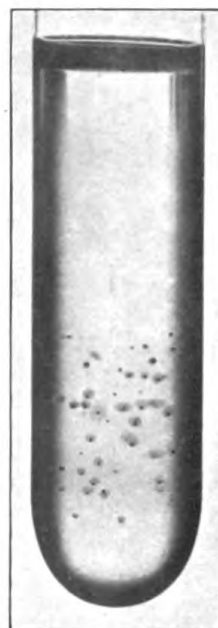


Fig. 3.

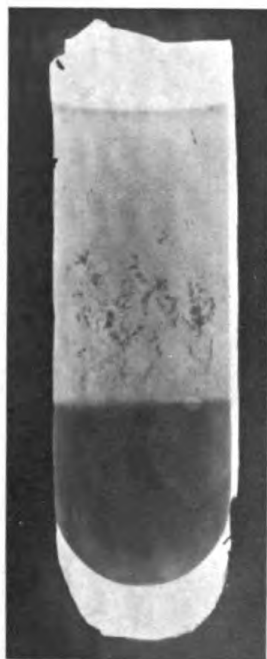


Fig. 4.

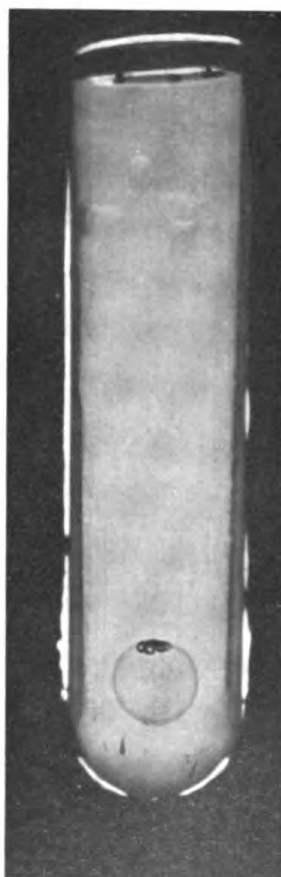


Fig. 5.

Antonio Rodella, Fäulnisbacillen für die Käsereifung.

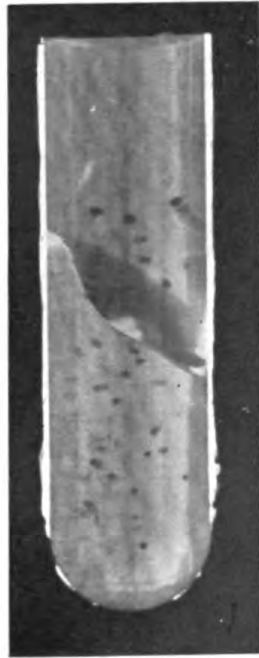


Fig. 6.

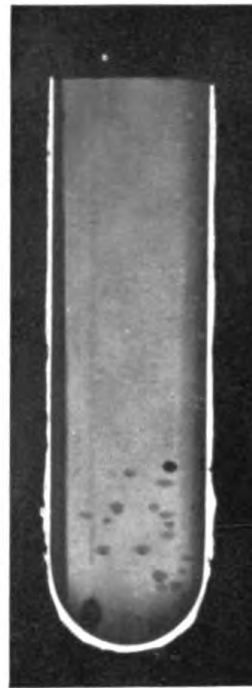


Fig. 7.

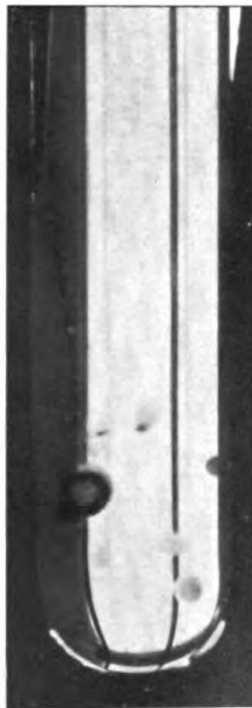


Fig. 8.

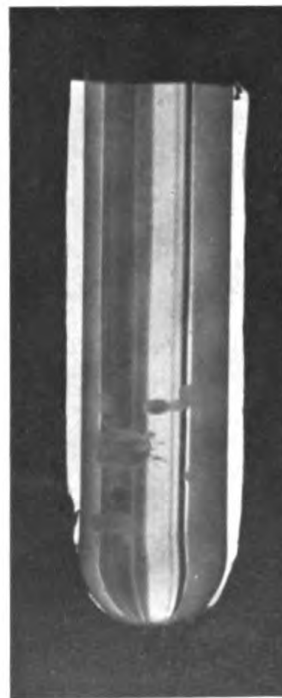


Fig. 9.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena**.

Nachdruck verboten.

Eine neue Bakterienerkrankung der Leguminosenfrüchte.

Von Dr. Ernst v. Oven,

Assistent der pflanzenphysiologischen Abteilung der Königl.
Gärtner-Lehranstalt Dahlem.

Mit 1 Tafel.

Im Juli 1905 hatte ich Gelegenheit, an einem Erbsenfeld bei Berlin und einem Beet in den Anlagen der Königl. Gärtner-Lehranstalt Dahlem eine eigenartige Krankheitserscheinung der Erbsenhülsen zu beobachten, welche in größerem Umfange schädigend auftrat.

Was nun zunächst das äußere Krankheitsbild betrifft, so war dasselbe folgendes. Die befallenen Hülsen waren auffallend kleiner und erschienen sehr frühzeitig gereift; doch war dieser Reifezustand kein normaler und trockener. Während bei normal abgereiften Erbsen die Hülsen trocken und spröde sind (Fig. 1), fühlen sich die kranken etwas feucht an und fallen auch durch die etwas dunklere Färbung auf; außerdem sind sie meist kleiner und dünner (Fig. 2).

Bei genauer Beobachtung der verschiedenen Entwicklungsstadien der Hülsen zeigte es sich, daß die Krankheit schon frühzeitig einsetzt und daß von der ersten Infektion bis zu dem eben geschilderten Bilde folgende Uebergänge sich unterscheiden lassen. Zunächst zeigte sich an der Hülse eine kleine Stelle, die etwas eingesunken und wässrig, daher dunkler verfärbt erschien, bald nahm dieselbe an Ausdehnung bedeutend zu und ergriff so die ganze Hülse; schließlich trocknete das Gewebe ein und ließ die Gefäßbündel deutlich hervortreten. In diesem Trockenzustand der ergriffenen Hülsen waren die Samen noch nicht ausgewachsen und ausgereift. Sehr oft konnte man beobachten, daß diese Fäulnis von der Spitze der Hülsen ausging, und zwar dann, wenn dieselben, wie es oft bei den niederliegenden Erbsenpflanzen der Fall ist, mit der Spitze im Erdboden steckten.

Abgesehen von dem gelegentlichen Auftreten von *Ascochyta Pisi* Lib. auf den Hülsen und *Sphaerotheca Castagnei* Lévl. auf den Blättern zeigten die Pflanzen ein gesundes normales Aussehen. Das Wurzelwerk war gut ausgebildet, auch von *Fusarium vasinfectum*, das in diesem Jahre um Berlin sehr häufig auch auf Erbsen auftrat¹⁾, war in den Gefäßen der Wurzeln und Stengel nichts zu beobachten. Da eine allgemeine physiologische Störung durch widrige Vegetationsverhältnisse ausgeschlossen erschien, lag dem Befunde und dem ganzen Krankheitsbilde nach die Vermutung einer Erkrankung durch Bakterien nahe, was die mikroskopische Untersuchung noch verstärkte.

Ueber das Auftreten dieser Erkrankung in Deutschland ist noch nichts bekannt, dagegen wurde aus dem Ausland über Erscheinungen berichtet, die mit vorliegendem Krankheitsbild große Aehnlichkeit haben.

Im Jahre 1892 beschrieben Beach²⁾ und Halsted³⁾ eine Bakterienerkrankung, die sie in New Jersey und Pennsylvanien auf den Hülsen verschiedener Bohnensorten beobachteten. Hier entstanden auf den

1) Ueber das Auftreten dieser Krankheit in Deutschland vergl. Appel.

2) Blight of Lima Beans. (N. Y. Agric. Exp. Stat. Geneva. Bull. No. 48. Dec. 1892.)

3) A bacterium of Phaseolus. (Rep. of the Bot. Dep. of the New Jersey Agric. Coll. Exp. Stat. f. the Year 1892. p. 283.)

Hülsen braune, etwas einsinkende weiche Flecke, die bis auf die Samen vordrangen. Halsted wies nach, daß die Samen erkrankter Hülsen und die auf dem Felde liegen gebliebenen Hülsen, welche durch die Bakterien zu Grunde gegangen waren, die Krankheit verschleppten; er empfiehlt als Vorbeugungsmittel die Aussaat bakterienfreier Samen, sowie die Vermeidung der Aecker, auf dem diese Krankheit beobachtet wurde, und gibt ferner als Bekämpfungsmittel neben Kupferkalkbrühe besonders Kupfersodabrühe an.

Die gleiche Beobachtung machte E. F. Smith¹⁾; dieser isolierte den Erreger, beschrieb ihn als kurze, gelbe, bewegliche Stäbchen und stellte mit Erfolg Impfversuche an.

Später, im Jahre 1897, teilte G. Delacroix²⁾ mit, daß in Frankreich in der Umgebung von Paris, besonders in feuchten Jahren, eine Bohnenerkrankung aufgetreten sei, die er als „die Fettigkeit der Bohnen“ beschrieb. Hier traten auf den Hülsen Flecken auf, die je nach der Bohnensorte verschieden aussahen, oft einen ziegelroten Rand aufwiesen oder stark erweichten und eine klebrige Masse ausschieden; in letzterer fand Verf. Bacillen, die $1,2-1,5 \times 0,3-0,4 \mu$ groß, gering beweglich und vermutlich mit *Bacillus Phaseoli* Smith identisch waren. Auch Impfversuche gelangen D. mit diesen Bacillen, und trat dann die Krankheitserscheinung nach 6 Tagen auf.

Bald darauf, im Jahre 1899, beobachtete Sturgis³⁾ eine Bakterien-erkrankung auf den Blättern und Hülsen von Limabohnen, wobei ebenfalls zunächst wässerig durchscheinende Flecke auftraten, die dann rötlich wurden und sich dunkel umrandeten; als vermutlichen Erreger gibt St. *Bacillus Phaseoli* Smith an.

Zur Isolierung der als Ursache in Frage kommenden Bakterienart wurden eben erkrankte Erbsenhülsen, die also nur eine kleine eingesunkene wässerige Stelle zeigten, oberflächlich mit sterilem Wasser gereinigt, dann mit einem sterilen Messer die Oberhaut an der verfärbten Stelle entfernt und eine kleine Menge des Hülsenfleisches mit Fleischbouillongelatine angeschüttelt, sowie zur Platte ausgegossen. Nach 24 Stunden zeigten sich zwei Arten von Kolonien, nämlich zahlreiche große, weißliche, die Gelatine stark verflüssigende und wenige sehr kleine gelbliche Kolonien. Beide Arten wurden von kurzen, lebhaft beweglichen Bakterien gebildet, die sich leicht mit Karbolfuchsin und Methylblau färben ließen.

Die Unterscheidung war nach der Isolierung in Stichkulturen sehr leicht. Die erstere zahlreicher vorhandene Art, nennen wir sie vorläufig a, verflüssigte die Gelatine sehr rasch, und zwar gleichmäßig von der ganzen Oberfläche zur Tiefe fortschreitend, während der andere, b, die Gelatine nur außerordentlich langsam dem Stich entlang mit gelber Farbe angriff. Auch in der Stichkultur auf Fleischbouillonagar unterschieden sich die beiden Arten sehr gut, indem a den Impfstich kaum hervortreten ließ und nur an der Oberfläche eine farblose Kolonie bildete, dagegen entstand auf der Oberfläche ein schwach gelblicher Farbstoff, der stetig zur Tiefe drang, schließlich das ganze Substrat durchfärbend.

1) Description of *Bacillus phaseoli* n. sp. with some remarks on related species. (Proc. Americ. Assoc. f. Advanc. of Sc. for 1897. p. 288.)

2) La graisse, maladie bactérienne des Haricots. (Compt. rend. T. CXXIX. 1899. p. 656.)

3) A bacterial blight of lima beans. (22. Jahresber. der Versuchsstat. f. Connecticut. p. 262—263. New Haven 1899. Nach Hollrungs Jahresber. 1899. p. 78.)

Bacillus b bildete auf der Oberfläche eine gelbe Kolonie und ließ nach ca. 1 Woche den Impfstich nagelförmig erscheinen, wobei aber die tieferen Schichten des Substrates stets farblos blieben.

Die Strichkultur von *Bacillus a* auf Gelatine wurde in kurzer Zeit flüssig, von *b* sehr viel später; dieselben Kulturen auf Agar zeigten, daß *a* farblos blieb, während *Bac. b* einen intensiven gelben Farbstoff erzeugte.

Auf steriler gekochter Kartoffelscheibe wuchs dagegen *b* intensiver und breitete sich mit tiefgelber Farbe über dieselbe aus, während *a* nur ein geringes Wachstum und kaum eine Färbung zeigte.

Nach der Isolierung und diesen Beobachtungen der beiden gefundenen Bakterienarten konnte behufs Festlegung des Erregers zu Impfversuchen übergegangen werden. Zunächst wurden 2mal je 15 Erbsenfrüchte, die an den Pflanzen unter Glasglocken hingen, mit den Reinkulturen aus *Bacillus a* und *b* nach Verletzung der Oberhaut geimpft. Schon am zweiten Tage zeigten von 15 Früchten, die mit *a* geimpft waren, 13 um die Impfstelle eine wässrige dunklere Verfärbung, die sich bald stark ausbreitete und schließlich jauchend die ganze Hülse bedeckte, während die Innenwand der Hülse intakt blieb (Fig. 3). Der Versuch mit *Bacillus b* hatte keinen Erfolg, sondern die Impfwunden schlossen sich rasch durch Korkbildung. Bei zahlreichen Wiederholungen dieses Versuches ergab sich öfters das Resultat, daß durch *Bacillus a* alle Früchte, durch *b* dagegen keine Frucht angegriffen wurde.

Impfungen junger Hülsen führten zur Zerstörung der Hülsenwand und zum Stillstand in der völligen Entwicklung und Ausreifung der Samen, doch schien diese Bakteriosis auf die Samen selbst nicht überzugehen. Hiernach ist zur Genüge bewiesen worden, daß der gefundene *Bacillus a* der Erreger dieser Krankheitserscheinung ist, und konnten wir nun den *Bacillus b* für die weiteren Versuche ausschalten, die dann auch nur mit dem *Bacillus a* angestellt wurden.

Zunächst war zu ergründen, welche Virulenz der *Bacillus* den Erbsenhülsen gegenüber hat, ob er nur verletzte Früchte angreift oder auch im stande ist, durch die unverletzte Epidermis sich Eingang in das Fleisch der Hülsenwand zu verschaffen. Zur Lösung dieser Frage wurden 3mal je 12 Früchte der Erbse, noch an den Pflanzen hängend, unter große Glasglocken gebracht; die Hülsen der ersten Gruppe wurden schwach verletzt und mit einer Aufschwemmung der Bakterien in sterilem Wasser überbraust, diejenigen der zweiten Gruppe unverletzt überbraust, während diejenigen der dritten in unverletztem Zustande mit einer Reinkultur bestrichen und später schwach mit Wasser überbraust wurden. Nach wenigen Tagen waren von 15 verletzten und mit der Bakterienaufschwemmung überbrausten Hülsen 9 stark ergriffen, während von den 15 unverletzten nur 4 eine beginnende Bakteriosis zeigten; von der dritten Gruppe, deren Früchte mit der Reinkultur bestrichen waren, hatten die Bakterien 6 Hülsen stark ergriffen.

Hiernach scheint es erwiesen, daß eine Verletzung der Hülsen nicht Bedingung für eine Infektion ist, wofür auch das mikroskopische Bild des Baues der Hülsen eine Erklärung abgibt. Die Cuticula ist verhältnismäßig dünn, sodann aber bieten die sehr zahlreichen Spaltöffnungen den Bakterien eine bequeme Eingangspforte zunächst in das Intercellularsystem und dann in die sehr zartwandigen Zellen des Mesophylls. Wie schon oben erwähnt, bleiben die Samen stets völlig intakt und geht die Bakteriosis nicht durch die ganze Dicke der Hülse hin-

durch; dies ist wohl damit zu erklären, daß die Innenseite der Hülse von mehreren übereinanderliegenden Zellschichten stark verdickter Sklerenchymzellen in fest zusammenhängender Schicht bedeckt wird, über der nach der Mitte der Hülse eine Lage kleiner parenchymatischer Zellen mit je einem großen die Zelle fast ganz ausfüllenden Kristall von oxalsaurem Kalk liegt.

Je feuchter die Atmosphäre um die erkrankten Früchte, um so reichlicher bildete sich an ihnen ein gelbbraunliches, klebriges Sekret, das Unmengen der gefundenen Bakterien enthielt. Von der Gefährlichkeit dieses Sekretes und der Virulenz der Bakterien zeugt der Umstand, daß bei loser Anlagerung völlig gesunder Hülsen an erkrankte ein sofortiges Uebergreifen der Bakterienfäule eintrat. In trockener Luft war diese Sezernierung nur sehr gering, so daß die Hülsen trockener erschienen, doch blieben sie auch im Endstadium weicher als die gesunden und normal trockenen Hülsen.

Aber nicht nur für die Früchte, sondern auch für die ganze Pflanze ist diese Bakterienart sehr gefährlich. Impfversuche an jüngeren absolut gesunden Pflanzen, sowohl an den Stengeln als auch an den Hülsen, haben zu dem Resultat geführt, daß die Früchte sämtlich vernichtet wurden, und von 4 Stengeln 3 in kurzer Zeit der Bakteriosis erlagen, und zwar drang die Erkrankung nicht nur stengelaufwärts, sondern auch abwärts vor. Die Pflanzen zeigten in kürzester Zeit, oft schon nach 2 Tagen, welke Blätter, fielen um und starben ab, während die ergriffenen Stellen sich mit jener klebrigen Bakterienmasse bedeckten.

Inwieweit kommen nun diese Bakterien für die Aussaat, die Verbreitung durch den Boden und die jungen Keimlinge in Betracht? Nach dieser Richtung wurden folgende Versuche angestellt. In 4 Töpfe mit Dahlemer Mutterboden wurden je 10 Erbsensamen ausgelegt, und zwar nach folgender Vorbehandlung:

Topf I erhielt Samen, der 6 Stunden in sterilem Wasser gelegen hatte,

Topf II Samen, welcher, ohne verletzt zu werden, 6 Stunden in bakterienhaltigem Wasser sich befand,

Topf III Samen wie in Topf II, nur wurden hier mit einer feinen Nadel die Schalen schwach angestochen, wobei beobachtet wurde, daß die Samen schon nach 2 Stunden straff angequollen waren,

Topf IV wurde so behandelt, daß der Boden mit bakterienhaltigem Wasser durchfeuchtet und dann der in sterilem Wasser 6 Stunden lang gequollenen Samen ausgelegt wurde.

Als Resultat ergab sich, daß von den je 10 Samen in:

Topf I 7 Pflanzen entstanden,

Topf II 3 Pflanzen, von denen eine in der Größe von ca. 2 cm an der Bakteriosis zu Grunde ging,

Topf III; keine Pflanze das Tageslicht erreichte, sondern bald nach der Keimung, die in 3 Fällen ausblieb, die Pflanzen faulig abstarben,

Topf IV: 3 gesunde Pflanzen wuchsen; eine ging bei Ausbildung der Kotylen und Austritt aus dem Boden, die anderen gleich nach der Keimung zu Grunde.

Hiernach ist anzunehmen, daß diese Bakterien auch im Boden den Samen und jungen Keimpflanzen verderblich werden können.

Dieser Versuch hat aber noch eine andere prinzipiellere Bedeutung; während nämlich allem Anschein nach die Krankheit, wie sie in diesem Jahre auftrat, nicht alle Jahre, sondern wahrscheinlich nur in feuchten

Jahren zum Ausbruch kommt, ist die Schädigung der Samen im Boden durch die Bakterien eine weniger von den Witterungsverhältnissen abhängige. Wir müssen also unseren Organismus auch mit zu denen rechnen, die das regelmäßige Auflaufen der Leguminosensamen im Boden verhindern, und es ist gewiß kein Zufall, daß die Beobachtungen Hiltners¹⁾ über diesen Gegenstand und meine Beobachtungen über die Erkrankung der Leguminosen beide in Dahlem gemacht wurden.

Nachdem obige Versuche zur Evidenz bewiesen hatten, daß dieser Bacillus für die Erbsenpflanze außerordentlich gefährlich ist, trat die Frage auf, inwieweit andere Pflanzen und die von uns angebauten Leguminosen für einen Angriff desselben empfindlich sind. Von anderen Pflanzen wurde nur die Kartoffelknolle und die Tomate zum Versuch herangezogen. Nachdem es sich, wie schon oben erwähnt, gezeigt hatte, daß unser Bacillus auf gekochter steriler Kartoffelscheibe verhältnismäßig schlecht wächst, wurden jetzt mehrere mit Wasser gut gereinigte und mit Sublimatlösung außen sterilisierte rohe Kartoffeln verschiedener Sorten mit sterilem Messer halbiert und an den Schnittflächen mit einer Reinkultur des Bacillus geimpft. Das Resultat war stets ein negatives.

Ferner wurden reife und unreife Tomaten mittelst Einstiches mit einer Bakterienreinkultur geimpft. In jedem Falle gelang die Infektion, und zwar gleichmäßig; die Bakterien bereiteten sich kreisförmig unter Dunkelfärbung und Erweichung des Gewebes aus, ohne die Oberhaut zu zerstören.

Die weiteren Versuche beschränkten sich nur auf Leguminosen und es wurden außer Erbsen noch Saubohnen, Lupinen, Wachsbohnen und verschiedene Sorten von grünen Bohnen in den Kreis der Beobachtung gezogen.

Zunächst wurden mit Saubohnen zahlreiche Impfversuche gemacht, wobei verschiedene Sorten berücksichtigt wurden und die Versuchsanstellung derartig vorgenommen, daß sowohl die Früchte noch in Verbindung mit den in Töpfe gesetzten Pflanzen, als auch abgepflückte Bohnenfrüchte in feuchter Kammer geimpft wurden. Der Erfolg war völlig negativ, die Impfwunden wurden abgekorkt, während sich die Wundränder schwarz färbten und eine weitere Verfärbung, besonders die charakteristischen wässerigen Stellen ganz ausblieben.

Bessere Erfolge ergaben die Lupinen, indem dieselben außerordentlich empfindlich den Angriffen unseres Bacillus gegenüber sind. Impfungen gelangen stets, auch war es hier nicht nötig, die Oberhaut zu verletzen, sondern die Bakterien drangen auch in die unverletzte Hülse ein, und bei Berührung einer gesunden Hülse mit einer erkrankten fand stets ein Uebergreifen der Krankheit statt. Die angefügte Tafel (Fig. 4) zeigt uns einen Fall, wo die Erkrankung von der Impfstelle einer Hülse in deren kurzen Stiel, dann weiter in den Stengel der Pflanze fortschritt und von hier aus eine tiefer ansitzende Hülse, die mit ihrem unteren Ende den Stengel berührte, ergriff und vernichtete. An der Infektionsstelle quollen in feuchter Kammer stets reichliche Mengen eines gelbgrünlichen Sekretes hervor, während die Oberfläche der Hülse zunehmend mit fortschreitender Ausbreitung der Bakteriosis sich mit einem klebrigen Sekret bedeckte, indem Unmengen der Bakterien vor-

1) Die Keimungsverhältnisse der Leguminosen und ihre Beeinflussung durch Organismenwirkung. (Arbeit aus der Biol. Abt. f. Land- und Forstwirtschaft am Kais. Ges.-Amt. Bd. III. Heft 1. Berlin 1903.)

handen waren. Auch durch Berührung von Lupine mit einer erkrankten Erbsenhülse und umgekehrt gelangen stets die Infektionen. Wie bei den Erbsenhülsen, so hinderte auch bei der Lupine die an der Innenseite des Fruchtblattes liegende Sklerenchymschicht, über der sich die oben erwähnten Kalkoxalatkristalle hier nicht finden, das Vordringen der Bakterien bis zu den Samen.

Was nun endlich die Impfversuche mit Bohnenhülsen betrifft, so zeigte es sich im allgemeinen, daß die Bohnenfrüchte von unserem Bacillus zerstört werden können, wenngleich dieselben nicht ganz so empfindlich sind wie Erbse und Lupine.

Weiter konnte festgestellt werden, daß alle Sorten Wachsbohnen wesentlich leichter zu dieser Erkrankung neigen als die verschiedenen Sorten von grünen Bohnen. Im ersten Krankheitsstadium entstand um die Impfstelle ein kleiner rotbrauner Fleck, der sich dann bald vergrößerte und dabei eine etwas heller braungefärbte Randpartie als Zeichen der fortschreitenden Bakteriosis erkennen ließ (Fig. 5 und 7). Später trat eine Erweichung des Gewebes und jenes charakteristische gelbgrünliche klebrige Sekret auf. Von diesem Stadium aus schritt die Zerstörung der Hülsen sehr rasch vorwärts und führte zur baldigen völligen Vernichtung der Früchte (Fig. 6 und 7). Auch hier ließ sich durch bloße Anlagerung gesunder Früchte an kranke die Infektion übertragen und gelangen fast alle Versuche, die zur wechselseitigen Ansteckung mit dem Sekret von Erbse, Lupine und Bohne auf diese verschiedenen Früchte gemacht wurden.

Nach Abschluß der Versuche erhielt ich durch die Liebenswürdigkeit des Herrn Zeichenlehrer Kiessling¹⁾ erkrankte grüne Bohnen aus der Umgebung von Krefeld, welche dasselbe Krankheitsbild und denselben Bacillus zeigten.

Als Resultat geht aus dem Gesagten folgendes hervor: Der Erreger dieser gefährlichen Erkrankung der Erbsen ist das gefundene, die Gelatine stark verflüssigende Bakterium; dieses ist nicht nur für Erbsen gefährlich, sondern ist im stande, andere Leguminosenfrüchte (Bohnen, Lupine) und wahrscheinlich auch eine größere Zahl anderer Früchte (Tomaten) zu zerstören.

Die Verbreitung von Frucht zu Frucht ist eine sehr leichte und geschieht wahrscheinlich durch das bakterienhaltige Sekret durch Vermittelung des Regens, der Vögel und Insekten, sicherlich auch noch durch den Boden.

Was nun den Erreger selbst betrifft, so ist er ein Bacillus in der Form eines kurzen Stäbchens; seine Größe beträgt $0,8 \times 2-2,3 \mu$. Er ist außerordentlich beweglich durch seine polaren Geißeln von wechselnder Zahl, die 2 bis 3mal so lang sind als der Bakterienleib und durch Löffler'sche Färbung unschwer sichtbar zu machen sind. Sein Wachstum ist fakultativ aërob, da Kulturen nur mit Watte verschlossen ferner in zugeschmolzenen Röhrchen, sowie über pyrogallussaurem Kali ganz gleichmäßig verflüssigt werden. Eine Fluoreszenz war nirgends zu beobachten, ebensowenig eine Gärung in zuckerhaltiger Nährgelatine und die Bildung von Indol oder Schwefelwasserstoff.

An völlig neutralem Erbsendekokt, welches teilweise mit dem Bak-

1) An dieser Stelle danke ich Herrn Kiessling für die liebenswürdige Anfertigung der Tafel.

terium versetzt, teilweise steril gehalten wurde, zeigte sich deutlich, wenn auch nicht sehr stark, die Bildung von Alkali, das sich mit Lackmus leicht nachweisen ließ.

In flüssigen Medien bildet der Bacillus leicht Sporen, die einzeln an wechselnder Stelle des Leibes oder je eine an den beiden Enden gebildet werden.

Wurden Kulturen auf Erbsendekoktgelatine und Fleischbouillon-gelatine teilweise dem Lichte ausgesetzt und teilweise im Dunkeln gehalten, so zeigte es sich, daß die im Licht stehenden Kulturen mit zunehmender Verflüssigung nachdunkelten, was wohl auf die Einwirkung des gebildeten Alkali zurückzuführen ist.

Bei der Verflüssigung bildete sich ein körnig-schleimiges Sediment im flüssigen Teil, das in den zugeschmolzenen Röhrchen auffallend gering war gegenüber den übrigen. Nach Gram ist der Bacillus nicht färbbar.

Die Kolonien erscheinen auf der Gelatine weißlich rund und ziemlich scharfrandig, auf Agar schleimig grau.

Die Stichkultur auf Gelatine zeigte ein rasches Flüssigwerden des Substrates gleichmäßig durch die ganze Breite; bei den Strichkulturen entstanden bald muldenförmige Vertiefungen. Auf Fleischbouillonagar bildete sich nach dem Stich auf der Oberfläche an der Eintrittsstelle der Nadel eine weißliche, schleimige Kolonie und eine langsam zur Tiefe gehende schwache Gelbfärbung des Substrates.

Auf gekochter steriler Kartoffelscheibe wuchs der Bacillus spärlich als schleimige farblose Kolonie auf der Oberfläche. Dieses so charakterisierte Bakterium läßt sich nicht mit irgend einer der bekannten und ausreichend beschriebenen Arten identifizieren. Da es sowohl beißelt und auch Sporen bildet, stelle ich es zu der Gattung *Bacillus* und nenne es seiner energischen Wirksamkeit auf Hülsen verschiedener Leguminosen *Bacillus leguminiperdus* n. sp.

In diesem Jahre hat die Zerstörung der Hülsen einen zweifellos beträchtlichen Schaden verursacht. Die meisten Hülsen der einzelnen Pflanzen wurden im Laufe des Hochsommers schon im jüngeren Stadium befallen, so daß sie schon in verhältnismäßig jungen Stadien gänzlich zu Grunde gingen. Andere, die später befallen wurden, erreichten wohl annähernd ihre normale Größe, ihre Samen jedoch blieben klein, so daß sie kein gutes Verkaufsmaterial und ein noch schlechteres Saatgut darstellten.

Wenn auch eine direkte Infektion der Samen nicht vorkommt, so ist trotzdem die Wirkung des Bakteriums in diesem Jahre nicht abgeschlossen; es hat sich vielmehr der Boden der befallenen Erbsenfelder so stark mit Bakterien angereichert, daß eine Aussaat im nächsten Jahre, vielleicht auch auf mehrere Jahre hinaus gefährdet ist. In der Landwirtschaft hat dies unter Umständen insofern Bedeutung, als in stark Erbsenbau treibenden Gegenden die Erbse mit in den regelmäßigen Wirtschaftsplan aufgenommen ist und verhältnismäßig auf denselben Böden wiederkehrt; aber auch sonst ist zu beachten, daß die Leguminosen von Gemengsaaten befallen werden und damit ein weiteres Moment für die Verschleppung gegeben ist. Ebenso ist auch in der Gärtnerei wichtig, sich gegenwärtig zu halten, daß die verschiedensten Leguminosen — vielleicht auch noch andere Pflanzen — empfindlich gegen den *Bacillus leguminiperdus* sind.

Man wird sich also nicht wundern dürfen, wenn wir bei einiger-

maßen feuchten Frühjahren lückenhaftes Aufgehen der Leguminosen in den nächsten Frühjahren beobachten.

Bezüglich der Bekämpfung konnten in diesem Jahre Versuche nicht ausgeführt werden und es läßt sich infolgedessen zur Zeit nicht viel darüber sagen. Die Beobachtungen haben jedoch gezeigt, daß diejenigen Erbsen, die sich leicht niederlegen und bei denen zahlreiche Hülsen den Boden berühren, besonders stark ergriffen werden. Es würde sich daher für die Gegenden, in denen man ähnliche Krankheitserscheinungen beobachtet hat, empfehlen, die Felderbsen nicht allein zu säen, sondern mit einer Beimischung von Staudenroggen, eine Methode, die sich übrigens schon in verschiedenen Gegenden aus anderen Gründen eingeführt hat. Weiter ist aber noch darauf hinzuweisen, daß Hiltner¹⁾ beobachtet hat, daß sich die verschiedenen Sorten der Leguminosen gegen die Bodenbakterien verschieden verhalten. Danach würde es sich wohl lohnen, vor der Aussaat nicht nur die Keimfähigkeit der Samen im allgemeinen zu prüfen, sondern das Aufgehen verschiedener Sorten der anzubauenden Frucht im fraglichen Boden zu untersuchen und danach die günstigste Sorte zu wählen.

Berlin, Oktober 1905.

Tafelerklärung.

- Fig. 1. Normalgereifte Erbsenfrucht.
- Fig. 2. Von *Bacillus leguminiperdus* zerstörte Hülse.
- Fig. 3. Impfstich und -strich mit einer Reinkultur auf einer Erbsenhülse.
- Fig. 4. Impfung einer Lupinenhülse und Uebergreifen der Infektion auf den Stengel und eine tiefer angesetzte Frucht.
- Fig. 5. Impfung einer Bohnenhülse.
- Fig. 6. Erkrankte Bohnenhülse.
- Fig. 7. Impfungen einer Wachsbohne.

Nachdruck verboten.

Experimentelle Untersuchungen über schweizerische Weidenrostpilze.

Von **Otto Schneider**, Bern.

Die vorliegenden Versuche wurden in den Jahren 1904 und 1905 im botanischen Institut der Hochschule Bern auf Veranlassung und unter der Leitung von Herrn Professor Dr. Ed. Fischer ausgeführt. Ich erlaube mir, an dieser Stelle meinem verehrten Lehrer für die vielfachen Anregungen herzlich zu danken.

A. Einleitung.

Die grundlegenden Untersuchungen über Weidenrostpilze verdanken wir H. Klebahn. Dieser Forscher hat durch zahlreiche, äußerst sorgfältig ausgeführte Infektionsversuche²⁾ zum erstenmal die biologischen

1) l. c.

2) Klebahn, H., Kulturversuche mit heterözischen Rostpilzen. VI. Bericht (1897). (Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. Bd. VII und Bd. VIII.) — Kulturversuche mit heterözischen Rostpilzen. VII. Bericht (1898). (Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. Bd. IX.) — Kulturversuche mit Rostpilzen. VIII. Bericht (1899). (Jahrb. f. wissenschaftliche Botanik. Bd. XXXIV.) — Kulturversuche mit Rostpilzen. IX. Bericht (1900). (Jahrb. f. wissensch. Botanik. Bd. XXXV.) — Kulturversuche mit Rostpilzen. X. Bericht (1901). (Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. Bd. XII.) — Kulturversuche mit



Kiessing gez.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Lith. Anst. Johannes Arndt, Jena

Eigentümlichkeiten der *Salix-Melampsoren* studiert. *Klebahn* beschränkte sich in der Hauptsache auf norddeutsches Versuchsmaterial. Es schien infolgedessen interessant nachzusehen, ob Weidenmelampsoren von geographisch und klimatisch getrennten Standorten, z. B. aus der Umgebung von Bern, in ihrem biologischen Verhalten mit den norddeutschen Formen übereinstimmen würden.

Durch eine große Reihe von Infektionsversuchen mit schweizerischen Weidenmelampsoren gelang es mir, einige neue Resultate beizubringen.

Allgemeines.

Mit einigen Ausnahmen wurde das Infektionsmaterial, welches bei diesen Untersuchungen Verwendung fand, aus Teleutosporen herangezogen, die ich im Herbst 1903 und 1904 auf zahlreichen Exkursionen teilweise selber gefunden hatte, die zum anderen Teil aber durch meinen lieben, leider seitdem verstorbenen Vater und durch Fräulein *Mathilde Orelli*, cand. phil., gesammelt worden waren.

Um in der Bestimmung der Nährpflanzen nicht nur auf die herbstlichen Blätter angewiesen zu sein, was immerhin für viele Weidenarten genügt hätte, bezeichnete ich jeweilen im Herbst den Teleutosporen tragenden Strauch beim Einsammeln des Pilzes genau, um dann im nächsten Frühjahr an Hand der Blüten die Wirtspflanzen absolut sicher bestimmen zu können. Herr Professor Dr. L. Fischer in Bern und Herr Lehrer Scheuerle in Frittlingen haben mich durch freundliche Nachprüfung meines Bestimmungsergebnisses in zwei Fällen sehr zu Dank verpflichtet.

Die infizierten Weidenblätter wurden den Winter über im Freien aufbewahrt und im Frühjahr vor dem Einleiten der Versuchsreihe einige Stunden in Wasser gelegt¹⁾.

Die Versuchspflanzen stammten aus folgenden Bezugsquellen:

Platanthera, *Allium* und *Saxifraga* aus dem botanischen Garten in Bern, *Evonymus*, *Ribes* und *Larix* von Haage und Schmidt in Erfurt, *Salix retusa*, *reticulata*, *serpyllifolia* und *herbacea* von Sündermann in Lindau und alle übrigen Weiden von Scheuerle, Frittlingen bei Rottweil (Württemberg).

Die Versuchspflanzen erwiesen sich mit wenigen Ausnahmen als richtig bestimmt. Ganz besonders möchte ich die äußerst zuverlässige Etikettierung der vielen hundert Weidenstecklinge von Herrn Scheuerle hervorheben.

Die wenigen Fälle, wo ich selbstgeschnittene Weidenstecklinge aus dem Selhofenmoos bei Bern zu Versuchen verwendete, sind bei der Beschreibung der betreffenden Infektionsreihe jeweilen speziell erwähnt.

Die Auswahl der Versuchspflanzen erfolgte natürlich immer nach einem bestimmten Plane. Immerhin mußte doch hie und da davon abgewichen werden, sei es, daß die gewünschten Exemplare nicht mehr vor-

Rostpilzen. XI. Bericht (1902). (Jahrb. der Hamburgischen wissenschaftl. Anstalten. Bd. XX. 3. Beiheft. Arbeiten der botan. Institute. Hamburg 1903.) — Kulturversuche mit Rostpilzen. XII. Bericht (1903 und 1904). (Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. Bd. XV.) — Alles zusammengefaßt in: H. Klebahn, Die wirtswechselnden Rostpilze. Versuch einer Gesamtdarstellung ihrer biologischen Verhältnisse. Berlin 1904.

1) Fischer, Ed., Beiträge zur Kryptogamenflora der Schweiz. Bd. I. Heft 1. p. 1.

rätig oder aber durch Fremdinfection zu Versuchszwecken unbrauchbar geworden waren.

In einigen Fällen erleichterten Analogieschlüsse mit *Klebanns* Untersuchungen die Auffindung des *Caeoma*-Wirtes bedeutend. Bei *Melampsora Ribesii-Grandifoliae* war es die Beobachtung im Freien, die die Entdeckung der *Caeoma*-Nährpflanze herbeiführte, während bei *Melampsora Evonymi-Incanae* das Versuchsergebnis eher überraschte, da in diesem Falle eine Infektion von *Larix decidua* erwartet wurde.

Bei der Rückinfection der *Caeomasporen* auf Weiden bezog ich absichtlich von Anfang an möglichst viele verschiedene Weidenspecies in die Versuche ein, um dadurch den Kreis der Wirtspflanzen mit genügender Sicherheit feststellen zu können.

Für das Eintopfen und die Pflege der vielen Versuchspflanzen bin ich Herrn Obergärtner *Schenk* und seinen Gehilfen vielen Dank schuldig.

Der Einfachheit halber will ich gleich hier einmal alle von mir in Versuchen verwendeten Nährpflanzen mit ihrem vollständigen Namen anführen, um dann im weiteren die Autornamen weglassen zu können.

| | |
|----------------------------------|--|
| <i>Abies pectinata</i> DC. | <i>Salix fragilis</i> L. |
| <i>Allium ursinum</i> L. | „ <i>grandifolia</i> Seringe. |
| <i>Evonymus europaeus</i> L. | „ <i>hastata</i> L. |
| <i>Larix decidua</i> Miller. | „ <i>Hegetschweileri</i> Heer. |
| <i>Platanthera bifolia</i> Rchb. | „ <i>herbacea</i> L. |
| <i>Ribes alpinum</i> L. | „ <i>incana</i> Schrank. |
| „ <i>aureum</i> Pursh. | „ <i>Myrsinites</i> var. <i>Jacquiniana</i> |
| „ <i>grossularia</i> L. | Willd. ¹⁾ . |
| „ <i>nigrum</i> L. | „ <i>nigricans</i> Smith. |
| „ <i>sanguineum</i> Pursh. | „ <i>nigricans</i> var. <i>glabra</i> Bus. ²⁾ . |
| <i>Salix acutifolia</i> Willd. | „ <i>pentandra</i> L. |
| „ <i>amygdalina</i> Koch. | „ <i>purpurea</i> L. |
| „ <i>alba</i> L. | „ <i>repens</i> L. |
| „ <i>arbuscula</i> Wahlb. | „ <i>reticulata</i> L. |
| „ <i>aurita</i> L. | „ <i>retusa</i> L. |
| „ <i>Capraea</i> L. | „ <i>retusa</i> var. <i>serpyllifolia</i> |
| „ <i>cinerea</i> L. | Scop. ³⁾ . |
| „ <i>daphnoides</i> Vill. | „ <i>Russeliana</i> Koch. |
| „ <i>dasyclados</i> Nimm. | „ <i>viminalis</i> L. |
| „ <i>elegantissima</i> ? | |

Bei allen Kulturversuchen mit Rostpilzen stellen die Fremdinfectionen eine nicht zu unterschätzende Fehlerquelle dar. In unserm Falle waren ihr weniger die in Gang gesetzten Versuchsreihen ausgesetzt, die alle möglichst isoliert in Treibhäusern und Glaskästen relativ gut geschützt waren, als vielmehr die im Freien installierten, von mir noch nicht infizierten Versuchspflanzen. In nicht allzu großer Entfernung außerhalb des Gartens finden sich freilebende Weiden, *Salix Capraea* und *S. nigricans*, und da es in der Nähe auch nicht an Lärchen fehlt, tritt gegen den Hochsommer hin jeweilen auf diesen Weidensträuchern reichliche *Uredo* auf, die durch den Wind über die ganze Umgebung hin zerstäubt wird. Ende Juni war deshalb mein Versuchsmaterial im Freien zu Versuchszwecken unbrauchbar geworden. Dagegen lieferten die in früheren Reihen nicht infizierten Pflanzen noch zuverlässige Resul-

1) Im Text als *Salix Jacquiniana*.
 2) Im Text als *Salix glabra*.
 3) Im Text als *Salix serpyllifolia*.

tate, da sie seit Wochen in geschlossenen Räumen vor Fremdinfection gut geschützt waren.

Durch Verlegen der wichtigsten Versuche ins Frühjahr, durch mehrmaliges Wiederholen derselben, wenn möglich in zwei verschiedenen Jahren, und durch genaue Kontrollierung der Versuchsergebnisse war ich bestrebt, die Beeinflussung meiner Versuchsergebnisse durch Fremdinfection aufzuheben.

B. Eigene Infektionsversuche.

1. *Melampsora Larici-Nigricantis*¹⁾ nov. f. sp.

Mit *Melampsoren* auf *Salix nigricans* wurde von frühern Autoren nie experimentiert; überhaupt ist diese Nährpflanze bisher nur in einer einzigen Versuchsreihe²⁾ und zwar mit negativem Erfolg verwendet worden. Diese Tatsache kann uns nicht verwundern, da ja *Salix nigricans* in denjenigen Teilen Norddeutschlands³⁾, wo hauptsächlich Untersuchungen über Weidenrostpilze vorgenommen wurden, überhaupt nicht vorkommt. In der Umgebung Berns ist die betreffende Weidenart nach *Salix Capraea* wohl die häufigste. Auf ihr macht sich oft schon von Mitte Mai an eine *Melampsora* vom *Epitea*-Typus bemerkbar. Im folgenden sollen nun die Ergebnisse meiner Untersuchungen in Bezug auf den Wirtswechsel und die Spezialisierung dieses Pilzes dargelegt werden.

a) Infektionsversuche mit Teleutosporen.

Versuchsreihe I.

Als Ausgangspunkt für die Untersuchung dieser *Melampsora* dienten Teleutosporen auf *Salix nigricans*, die ich auf einer Exkursion mit Herrn Professor Dr. Ed. Fischer am 8. November 1903 im Selhofenmoos bei Bern gesammelt hatte.

Das überwinterte Pilzmaterial wurde am 23. April 1904 auf folgende Versuchspflanzen aufgelegt:

| | |
|------------------------------------|-------------------------------|
| I 1 u. 2 <i>Larix decidua</i> , | I 6 <i>Ribes sanguineum</i> , |
| 3 u. 4 <i>Evonymus europaeus</i> , | 7 „ <i>aureum</i> . |
| 5 <i>Ribes grossularia</i> , | |

Aus den örtlichen Verhältnissen und aus Klebahn's bisherigen Untersuchungen mußte geschlossen werden, daß das *Caeoma* wahrscheinlich *Larix* oder *Evonymus* bewohne.

Der zu gleicher Zeit eingeleitete Objektträgerversuch zeigte am 25. April reichliche Basidiosporen, die auch schon von bloßem Auge als gelber Anflug auf dem Objektträger deutlich erkannt werden konnten.

Die Versuchskontrolle ergab folgendes:

3. Mai. Alle Pflanzen scheinen noch pilzfrei; immerhin sind einige verdächtige gelbliche Flecken auf den Nadeln von *Larix* I 1 und 2 im Auge zu behalten.

4. Mai. Beide Lärchen tragen Pykniden.

1) Schneider, O., Versuche mit schweizerischen Weidenmelampsoren. [Vorl. Mitt.] (Centralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. XIII. 1904. p. 223.)

2) Klebahn, Kulturversuche IX.

3) Buchenau, Flora der nordwestdeutschen Tiefebene. Leipzig 1894.

11. Mai. *Larix* 1 und 2 sind außerordentlich stark infiziert, besonders auf I 1 finden sich Hunderte von Pykniden und viele *Caeoma*-Lager, die einen charakteristischen, demjenigen blühenden Sauerdorns vergleichbaren Geruch ausströmen.

Alle anderen Versuchspflanzen blieben völlig pilzfrei.

Im Selhofenmoos bei Bern findet sich also auf *Salix nigricans* eine *Melampsora*, die ihr *Caeoma* auf *Larix decidua*, nicht aber auf *Evonymus* oder *Ribes* bildet.

Dieses Resultat wird durch drei weitere Versuchsreihen erhärtet.

Versuchsreihe II.

Teleutosporen auf *Salix nigricans*, die ich anfangs Dezember 1903 am Ufer der Aare im Dalmazi bei Bern sammelte, wurden am 13. Mai 1904 aufgelegt auf:

II 1—4 *Larix decidua*, II 6 *Ribes grossularia*,
5 *Evonymus europaeus*, 7 „ *sanguineum*.

23. Mai. *Larix* II 2 und II 4 zeigen Pykniden.

4. Juni. Alle Lärchen tragen *Caeoma*, II 1 ist am stärksten infiziert, doch bei weitem nicht so reichlich wie in I.

Ribes und *Evonymus* bleiben pilzfrei.

Teleutosporen auf *Salix nigricans* von einem andern Standort im Dalmazi bei Bern dienten am 11. Mai als Infektionsmaterial für:

Versuchsreihe III.

III 1—4 *Larix decidua*.

Dieser Versuch wurde unternommen, um *Caeoma* zur spätern Rückimpfung auf Weiden zu gewinnen.

Der Objektträgerversuch zeigt am 12. Mai spärliche, am folgenden Tage reichliche Basidiosporenbildung.

23. Mai. Wenige Pykniden auf III 3.

4. Juni. III 1 trägt nur Pykniden, die übrigen Versuchspflanzen besitzen schwach *Caeoma*. Die Kontrolle hatte zu spät stattgefunden, zudem waren die *Larix*-Blätter bei Vornahme der Infektion wahrscheinlich schon zu alt.

Auf einer Exkursion am 15. Mai 1904 fand ich den Weidenstrauch, der mir das Teleutosporenmaterial zu Reihe III geliefert hatte, schon wieder stark vom Pilz befallen. Blätter und Fruchtknoten trugen viele *Uredo*-Lager. Lärchen sind in der Nähe angepflanzt.

Versuchsreihe IV.

Ein Jahr später lieferte mir Teleutosporenmaterial von *Salix nigricans*, das an anderer Stelle am Aareufer bei Bern im Dezember 1904 gesammelt worden war, eine zuverlässige Bestätigung der drei ersten Versuchsreihen. Der Versuch wurde am 12. Mai 1905 eingeleitet.

IV 1 u. 2 *Larix decidua*, IV 4 *Ribes sanguineum*.
3 *Evonymus europaeus*,

Der Objektträgerversuch ergab viele auf der Blattunterseite, weniger auf der Blattoberseite ausgeworfene Basidiosporen.

30. Mai. *Larix* IV 1 mit Pykniden. *Larix* IV 2 mit Pykniden und wenig *Caeoma*.

6. Juni. Beide Lärchen tragen massenhaft *Caeoma*.

26. Juni. 6½ Wochen nach dem Auflegen des Teleutosporenmateri- als ist immer noch *Caeoma* vorhanden, das aber seine Keimfähigkeit zum großen Teil verloren hat.

Evonymus und *Ribes* blieben während der ganzen Versuchsdauer völlig gesund.

Im Mai 1905 war ein großer Kälterückschlag eingetreten, der sich in allen zu dieser Zeit unternommenen Infektionsversuchen deutlich abspiegelt. In IV nahm die *Caeoma*-Bildung genau eine Woche mehr in Anspruch als im Jahr vorher in I, trotzdem zu IV Lärchen mit ganz jungen Blättern verwendet wurden.

Ergebnis der Versuchsreihen I—IV. Auf *Salix nigricans* lebt in der Umgebung von Bern eine heterözische *Melampsora* vom *Epitea*-Typus, die *Larix decidua* zum *Caeoma*-Wirt hat.

b) Infektionsversuche mit *Caeoma*- und Uredosporen.

Nun galt es, durch Rückinfektion die Uredo- und Teleutosporennährpflanzen festzustellen.

Versuchsreihe V.

Die in I auf *Larix* erhaltenen *Caeoma*-Sporen wurden mit dem Zerstäuber am 19. Mai 1904 auf folgende Weiden verteilt:

| | | | |
|-----|------------------------|------|--------------------------|
| V 1 | <i>Salix repens</i> , | V 12 | <i>Salix Capraea</i> , |
| 2 | „ <i>incana</i> , | 13 | „ <i>amygdalina</i> , |
| 3 | „ <i>aurita</i> , | 14 | „ <i>daphnoides</i> , |
| 4 | „ <i>nigricans</i> , | 15 | „ <i>cinerea</i> , |
| 5 | „ <i>nigricans</i> , | 16 | „ <i>acutifolia</i> , |
| 6 | „ <i>grandifolia</i> , | 17 | „ <i>glabra</i> , |
| 7 | „ <i>alba</i> , | 18 | „ <i>arbuscula</i> , |
| 8 | „ <i>purpurea</i> , | 19 | „ <i>elegantissima</i> , |
| 9 | „ <i>fragilis</i> , | 20 | „ <i>reticulata</i> , |
| 10 | „ <i>pentandra</i> , | 21 | „ <i>herbacea</i> . |
| 11 | „ <i>viminalis</i> , | | |

28. Mai. *Salix nigricans*, *incana*, *glabra*, *daphnoides* und *arbuscula* tragen spärliche Uredo.

31. Mai. *Salix nigricans* V 4 hat drei Uredolager auf der Blattoberseite, fünf auf der Blattunterseite, *S. nigricans* V 5 7 Lager unten, *S. glabra* 20, *S. daphnoides* 15 kleine Uredolager auf Unter- und Oberseite zerstreut, *S. arbuscula* 4, *S. incana* 2. *S. fragilis* 2.

6. Juni. Bei *S. nigricans* V 4 wachsen die Infektionsstellen. *S. nigricans* V 5 ist stark befallen, ein Blatt trägt z. B. 25 Lager. *S. glabra* ist stark infiziert, ein Blatt mit 15 Lagern; *daphnoides* trägt 10 kleine Rostflecken, *incana* 15, *cinerea* 4, *arbuscula* 6, *acutifolia* 6. Die andern Pflanzen sind pilzfrei.

16. Juni. Die Uredo auf *S. nigricans* und *S. glabra* ist fortwährend im Zunehmen begriffen. Auf den andern bisher befallenen Weiden ist eher eine Abnahme zu konstatieren. Neu ist ein Lager auf *S. grandifolia*.

6. Juli. Beide Exemplare von *S. nigricans* sowie *S. glabra* sind sehr stark befallen, *arbuscula* hat 8 Flecken, *acutifolia* 3, *reti-*

culata 2, herbacea 1, incana, daphnoides, grandifolia, cinerea, fragilis und alle anderen Pflanzen sind wieder ganz pilzfrei.

Augenscheinlich vermag sich der Pilz auf *S. daphnoides*, *incana* und andern auf die Dauer nicht zu behaupten.

Versuchsreihe VI.

Mit der *Uredo* auf *S. nigricans* in V fand am 7. Juni eine Nachprüfung durch Uebertragung auf andere Versuchspflanzen statt.

| | |
|-----------------------------|-----------------------------|
| VI 1 <i>Salix nigricans</i> | VI 9 <i>Salix purpurea</i> |
| 2 " <i>daphnoides</i> | 10 " <i>viminalis</i> |
| 3 " <i>arbuscula</i> | 11 " <i>aurita</i> |
| 4 " <i>incana</i> | 12 " <i>Capraea</i> |
| 5 " <i>fragilis</i> | 13 " <i>grandifolia</i> |
| 6 " <i>glabra</i> | 14 " <i>Hegetschweileri</i> |
| 7 " <i>acutifolia</i> | 15 " <i>Jacquiniana</i> |
| 8 " <i>retusa</i> | |

Nach 9 Tagen waren *S. nigricans*, *glabra* und *Hegetschweileri* stark befallen, *daphnoides* und *arbuscula* mäßig stark und *incana* schwach. *S. acutifolia* ist von Raupen arg zerfressen.

6. Juli 1904. *S. nigricans*, *glabra* und *Hegetschweileri* sind sehr stark infiziert; auf *S. incana*, *daphnoides* und *arbuscula*, die dicht daneben stehen, bemerkt man nur noch spärliche *Uredo*-Lager, die dann in den nächsten Wochen, ohne Teleutosporen zu bilden, verschwinden. Alle andern Pflanzen bleiben während der ganzen Versuchsdauer pilzfrei.

Versuchsreihe VII.

Uredo-Sporen von *S. nigricans* aus Reihe VI wurden am 8. Juli 1904 zerstäubt auf:

| | |
|----------------------------|---------------------------|
| VII 1 <i>Salix cinerea</i> | VII 4 <i>Salix repens</i> |
| 2 " <i>daphnoides</i> | 5 " <i>Russeliana</i> |
| 3 " <i>incana</i> | 6 " <i>nigricans</i> |

Bei der Kontrolle am 1. August zeigte sich *S. nigricans* sehr stark infiziert. *S. incana*, *daphnoides* und *cinerea* besaßen vereinzelte *Uredo*-Lager, während *repens* und *Russeliana* ganz gesund geblieben waren.

Ergebnis der Versuchsreihen V—VII.

Melampsora Larici-Nigricantis bewohnt außer *S. nigricans* auch *S. glabra* und *S. Hegetschweileri*. Mehr vorübergehend und viel schwächer befällt sie auch *S. daphnoides*, *cinerea*, *incana*, *arbuscula*, *fragilis*, *acutifolia*, *grandifolia*, *herbacea* und *reticulata*; 11 andere blieben vollständig pilzfrei.

Biologisch unterscheidet sich dieser Pilz deutlich von Klebahnns verwandten Formen; dies noch um so mehr, als die ihr am nächsten stehende *Melampsora Larici-epitea* Kleb. den Wirt von *M. Larici-Nigricantis*, *Salix nigricans* überhaupt nicht zu infizieren vermag (s. Tabelle 2).

2. *Melampsora Larici-Purpureae* ¹⁾ nov. f. sp.

Die ersten Infektionsversuche mit *Melampso*ren auf *Salix purpurea*

1) Schneider, O., l. c. p. 223.

stammen aus dem Jahre 1900 und wurden von Klebahn¹⁾ mit norddeutschem Sporenmaterial durchgeführt. Es ergaben sich dabei als *Caeoma*-Wirte *Ribes grossularia*, *alpinum*, *sanguineum* und *aureum*. Pilzmaterial aus der Umgebung von Jena²⁾ förderte ein gleiches Resultat zu Tage. Klebahn nannte diese Form *Melampsora Ribesii-Purpureae* Kleb. Morphologisch entspricht sie dem *Epitea*-Typus.

Larix decidua zeigte bei diesen Versuchen nie die geringste Infektion. In Versuchsreihen mit *Larix-Caeoma*, das von *Salix cinerea*³⁾ herstammte, wurde in seltenen Fällen *Salix purpurea* ganz schwach infiziert; gewöhnlich aber blieb sie völlig immun.

In der Umgebung Berns finden sich auf *Salix purpurea* nicht selten gegen den Spätherbst hin Teleutosporen, die mit denjenigen von *Melampsora Ribesii-Purpureae* ganz übereinstimmen. Es schien infolgedessen wahrscheinlich, daß sich die norddeutsche und die schweizerische Form auch biologisch gleich verhalten würden. Versuche, die ich 1904 und 1905 vornahm, beweisen nun aber aufs klarste, daß dies nicht der Fall ist.

a) Infektionsversuche mit Teleutosporen.

Versuchsreihe VIII.

Im Herbst 1903 sammelte ich auf dem Aaredamm im Selhofenmoos bei Bern unweit des Standortes der *Melampsora Larici-Nigricantis* Teleutosporenmaterial auf *Salix purpurea*. Am 19. April 1904 wurde mit dem überwinterten Pilz eine Versuchsreihe eingeleitet.

| | |
|------------------------------------|------------------------------|
| VIII 1 u. 2 <i>Larix decidua</i> , | VIII 5 <i>Ribes aureum</i> , |
| 3 <i>Evonymus europaeus</i> , | 6 „ <i>sanguineum</i> . |
| 4 <i>Ribes grossularia</i> , | |

Der zu gleicher Zeit eingeleitete Objektträgerversuch zeigte am folgenden Tage noch keine Sporenkeimungen; am 21. und 22. April war ich an der Kontrolle verhindert; die am 23. April zahlreich vorhandenen Basidiosporen mochten also schon 1—2 Tage früher ausgeworfen worden sein.

2. Mai. Die Durchsicht der Versuchspflanzen ergibt auf *Larix* 1 eine Pyknide, auf *Larix* 2 deren etwa 10. *Evonymus* und die *Ribes*-Arten sind vollständig gesund.

3. Mai. Am nächsten Tage zeigt die Kontrolle auf *Larix* 1 zwei weitere Pykniden.

11. Mai. Beide *Larices* sind stark infiziert und tragen viele *Caeoma*-Lager.

18. Mai. Mit Ausnahme der zwei *Caeoma* tragenden Lärchen sind alle Versuchspflanzen völlig pilzfrei.

Versuchsreihe VIII beweist, daß wir es hier nicht mit *Melampsora Ribesii-Purpureae* zu tun haben, da ja *Ribes* gegen den Pilz immun zu sein scheint, *Larix* dagegen leicht infiziert wird.

Immerhin mußte es wünschenswert sein, mit Pilzmaterial von einem andern Standort die Verhältnisse nachzuprüfen, da eine einzige Versuchsreihe noch nicht eine genügend sichere Verallgemeinerung erlaubt.

1) Klebahn, Kulturversuche IX.
 2) Klebahn, Kulturversuche X.
 3) Klebahn, Kulturversuche VIII u. IX.

Versuchsreihe IX.

Mein Vater sammelte am 16. November 1903 auf dem Münchenbuchseemoos (Kt. Bern) auf *Salix purpurea* eine *Melampsora*, die ihre Teleutosporen in reicher Menge auf beiden Blattseiten bildete. Die pilzbefallenen Weidenblätter wurden am 17. Mai 1904 auf die folgenden Versuchspflanzen aufgelegt:

IX 1—5 *Larix decidua*, IX 7 *Ribes aureum*,
6 *Evonymus europaeus*, 8 „ *grossularia*.

Der Kontrollversuch auf Objektträgern zeigt am 20. Mai an einigen Stellen den leicht kenntlichen gelben Anflug, der von den abgeworfenen Basidiosporen herrührt. Die große Mehrzahl der Teleutosporenlager scheint jedoch nicht zu keimen. Vielleicht liegt der Grund darin, daß der Infektionsversuch zu spät vorgenommen wurde.

4. Juni. 4 Lärchen sind relativ schwach infiziert, *Larix* 1, *Evonymus* und die beiden *Ribes* sind ganz pilzfrei.

Versuchsreihe X.

Im folgenden Jahre wurde der Versuch mit Teleutosporen auf *Salix purpurea* noch einmal wiederholt. Das Material stammte aus dem Selhofenmoos. Ich fand im Dezember 1904 den Weidenstrauch, der mir im vorigen Jahr das Infektionsmaterial zu Versuchsreihe VIII geliefert hatte, wieder infiziert. Die Teleutosporen brachte ich am 31. Mai 1905 auf X 1, *Larix decidua*.

Auch hier machte ich mit dem Objektträgerversuch die gleiche Beobachtung wie in IX: nach Mitte Mai schien die Mehrzahl der Teleutosporen dieses Pilzes die Keimkraft verloren zu haben.

Am 9. Juni war auf *Larix* noch kein positiver Infektionserfolg sichtbar.

Bis zum 25. Juni jedoch bildete sich immerhin genug *Caeoma*, um damit eine Rückimpfung vorzunehmen.

Ergebnis der Versuchsreihen VIII—X. Die *Melampsora* auf *Salix purpurea* in der Umgebung von Bern bildet ihr *Caeoma* auf *Larix decidua*, während *Evonymus europaeus*, *Ribes grossularia*, *R. aureum* und *R. sanguineum* von ihr nicht befallen werden. Dieser Pilz ist infolgedessen mit *Melampsora Ribesii-Purpureae* Kleb. nicht zu identifizieren.

b) Infektionsversuche mit *Caeoma*- und *Uredosporen*.

Für die Rückimpfung auf Weiden stand Material verschiedener Herkunft zur Verfügung.

1) Das durch eigene Kulturversuche aus Teleutosporen herangezogene.

2) *Caeoma* auf *Larix* aus dem Freien, das ich unweit des Standortes unseres Pilzes fand.

3) *Uredo* auf *Salix purpurea* aus dem Freien, die ich an verschiedenen Stellen beobachtete.

Am zuverlässigsten und einwandfreisten ist immer das selber kultivierte Pilzmaterial. Mit Lärchencaeoma aus dem Freien ist kein klares Resultat zu erwarten, da *Larix decidua* einer ganzen Reihe von biologisch verschiedenen Arten als Wirt dient.

Gleich mißlich steht es mit *Uredo*, die man nicht selber kultiviert hat. Denn wie es schon die Versuche mit *Melampsora Larici-Nigricantis* wahrscheinlich machten, und wie weiter unten nach-

gewiesen wird, bringen es einige Melampsoren auf weniger Nährpflanzen zur Teleutosporen- als zur Uredobildung. Auf ein und derselben Weiden-species kann infolgedessen Uredo verschiedener Zugehörigkeit zu gleicher Zeit auftreten, bei deren Unterscheidung uns das Mikroskop vollständig im Stiche läßt. Aber nicht alle diese Melampsoren bilden Teleutosporen, sondern in der Regel nur diejenigen, die die betreffende Weidenart zur Hauptnährpflanze haben.

Deshalb verwendete ich zu den vier folgenden Versuchsreihen nur selbstkultiviertes Pilzmaterial aus VIII bis X.

Versuchsreihe XI.

Die auf Larix VIII 1 und 2 erhaltenen Caeoma-Sporen brachte ich am 20. Mai 1904 mit dem Zerstäuber auf folgende Weiden:

| | |
|-----------------------|-----------------------|
| XI 1 Salix viminalis, | XI 4 Salix nigricans, |
| 2 „ cinerea, | 5 „ purpurea, |
| 3 „ aurita, | 6 „ incana. |

S. nigricans und incana sind selbstgeschnittene Stecklinge vom Ufer der Aare bei Bern.

28. Mai. S. purpurea trägt schon Uredo-Lager.

4. Juni. S. purpurea ist stark infiziert; die Uredo-Lager bilden sich auf Blattunter- und Oberseite.

S. incana und nigricans mit spärlichen Lagern.

9. Juni. S. purpurea ist sehr stark befallen, bei incana ist eine schwache Zunahme, bei nigricans ein Stillstand in der Infektion zu konstatieren. Neu ist je ein kleines Lager auf S. aurita und cinerea.

14. Juni. Das Uredo-Lager auf S. cinerea ist wieder verschwunden.

6. Juli. S. purpurea trägt immer noch reichlich Uredo, S. cinerea ist abgestorben, bei nigricans und incana ist jede Spur einer Infektion verschwunden, aurita trägt vereinzelte Uredo-Lager, viminalis blieb während der ganzen Versuchsdauer pilzfrei.

Hier haben wir also wieder einen Fall, der dem in V beobachteten analog ist. Er zeigt, daß die Uredo-Generation einer Melampsora häufig auch solche Nährpflanzen schwach infiziert, auf denen in der Regel keine Teleutosporen gebildet werden.

Versuchsreihe XII.

Mit Uredo auf Salix purpurea XI 5 wurden am 14. Juni 1904 folgende Versuchspflanzen geimpft:

| | |
|----------------------|---------------------|
| XII 1 Salix incana, | XII 9 Salix repens, |
| 2 „ purpurea, | 10 „ cinerea, |
| 3 „ viminalis, | 11 „ nigricans, |
| 4 „ Hegetschweileri, | 12 „ amygdalina, |
| 5 „ grandifolia, | 13 „ fragilis, |
| 6 „ pentandra, | 14 „ daphnoides, |
| 7 „ aurita, | 15 „ reticulata, |
| 8 „ alba, | 16 „ Capraea. |

Bei dem reichlichen Infektionsmaterial konnte der Kreis der in XI in Betracht gezogenen Wirtspflanzen bedeutend erweitert werden, um so genügend Anhaltspunkte für das Verhältnis unseres Pilzes zu den andern Weidenmelampsoren vom Epitea-Typus zu gewinnen (siehe Tabelle 2).

20. Juni. *Salix purpurea* ist infiziert, ein Blatt trägt schon 10 kleine *Uredo*-Lager.

Dieser im Verlauf von nur 6 Tagen eingetretene Infektionserfolg ist der rascheste, den ich in allen meinen Kulturversuchen beobachtete. Daß er von meinem *Uredo*-Material herrührt und nicht etwa auf eine Fremdinfection zurückzuführen ist, geht aus dem Umstand hervor, daß andere, von mir nicht infizierte Exemplare von *Salix purpurea* nicht die geringsten Pilzspuren aufwiesen.

6. Juli. *Salix purpurea* ist äußerst stark befallen; auf der Unterseite eines einzigen Blattes zähle ich z. B. 180 deutlich von einander getrennte Lager. *S. daphnoides* hat 20 einzelne *Uredo*-Lager, *aurita* 18, *nigricans* 6, alle auf dem gleichen Blatt, *incana* 6, *Capraea* 6, *grandifolia* 2.

Alle anderen Versuchspflanzen scheinen gegen unsern Pilz völlig immun zu sein. Auf *Salix alba* traten allerdings vereinzelt *Uredo*-Lager auf. Bei mikroskopischer Betrachtung ihrer Sporen zeigte es sich aber, daß diese nicht dem *Epitea*-Typus angehörten. Die länglichen, stachelwarzigen *Uredo*sporen stimmten mit *Melampsora Allii-Salicis-albae* Kleb. überein. Klebahn¹⁾ hat für diesen Pilz perennierendes Mycel nachgewiesen, das im stande ist, auf *Salix alba* mit Umgehung des *Caeoma*-Wirtes *Uredo* zu erzeugen. Zweifellos war das Versuchsexemplar von *Salix alba* schon angesteckt, als Versuchsreihe XII eingeleitet wurde, ob durch *Caeomas*sporen oder nicht, bleibe vorläufig dahingestellt; denn auch einige der von mir nicht infizierten und für spätere Versuche aufgesparten Silberweiden zeigten bald vereinzelt *Uredo*-Lager von gleichem Typus.

Drei Wochen später trug *Salix purpurea* immer noch *Uredo*; auf *S. aurita* waren noch kleine zerstreute Infektionsstellen und auf *S. nigricans* ganz spärliche Lager, die aber im Abnehmen begriffen zu sein schienen. *S. daphnoides*, *incana*, *Capraea* und *grandifolia* schienen wieder ganz pilzfrei.

Versuchsreihe XIII.

Am 9. Juli 1904 fand mit *Uredo* von *Salix purpurea* XII 2 eine Nachprüfung statt auf:

| | |
|--------------------------------|-------------------------------|
| XIII 1 <i>Salix purpurea</i> , | XIII 6 <i>Salix Capraea</i> , |
| 2 „ <i>daphnoides</i> , | 7 „ <i>elegantissima</i> , |
| 3 u. 4 „ <i>nigricans</i> , | 8 „ <i>pentandra</i> , |
| 5 „ <i>incana</i> , | 9 „ <i>herbacea</i> . |

Am 1. August fand ich *S. purpurea* stark infiziert, *daphnoides* mittelstark auf Blattober- und Unterseite, *Capraea* abgestorben und alle anderen Versuchspflanzen ganz pilzfrei.

Infolge einer zweimonatlichen Abwesenheit von Bern konnte ich den Versuch nicht weiter verfolgen, so daß mir der Verlauf der Infektion auf *S. daphnoides* nicht bekannt ist. Vielleicht trat auch hier wie im vorhergehenden Versuch bald einmal eine rasche Verminderung der *Uredo*-Lager ein.

Ergebnis der Versuchsreihen XI—XIII.

Melampsora Larici-Purpureae lebt in der *Uredo*- und *Teleuto*-Generation auf *Salix purpurea*. Schwächer infiziert sie

1) Klebahn, Kulturversuche IX.

Salix daphnoides und *S. aurita* und ganz spärlich *S. cinerea*, *nigricans*, *incana* und *grandifolia*. Vollständig unempfindlich scheinen *Salix viminalis*, *Hegetschweileri*, *pentandra*, *alba*, *repens*, *amygdalina*, *fragilis*, *elegantissima*, *reticulata* und *herbacea*.

Biologisch unterscheidet sie sich von allen bisher untersuchten Formen der *Epitea*-Gruppe.

3. *Melampsora Larici-Reticulatae*¹⁾ nov. f. sp.

Die ersten Infektionsversuche mit schweizerischen alpinen Weidenmelampsoren unternahm Jacky²⁾, dem es gelang, mit *Caeoma* von *Saxifraga oppositifolia* aus dem Val de Bagne Uredo- und Teleutosporen auf *Salix herbacea* heranzuziehen. *Salix serpyllifolia* blieb gegen den Pilz immun. Allerdings schlug der umgekehrte Versuch, *Saxifraga* durch die Basidiosporen dieser *Melampsora alpina* Juel zu infizieren, fehl.

Eine weitere alpine forma specialis ist *Melampsora Larici-Retusae* Ed. Fischer³⁾. Mit Teleutosporen von *Salix retusa* erzielte Ed. Fischer *Caeoma* auf *Larix decidua*, bei der Rückimpfung Uredo auf *Salix retusa* und *S. herbacea* und schwächer auf *S. reticulata* und *serpyllifolia*. Bei *S. daphnoides* und *S. acutifolia* war die Infektion ganz schwach oder sogar fraglich.

Im Herbst 1903 und im Sommer 1904 experimentierte Klebahn⁴⁾ ebenfalls mit *Melampsora Larici-Retusae* aus dem Berner Oberland. Diese Versuche ergaben eine kleine Abweichung insofern, als darin *Salix cinerea* und *S. aurita* schwach, *S. Capraea* mäßig stark infiziert wurden, während diese Arten in Fischers Versuchen immun geblieben waren.

Durch eigene Kulturversuche im Sommer 1905 ist es mir gelungen, weitere Beiträge zur Kenntnis der alpinen Weidenmelampsoren zu liefern.

a) Infektionsversuche mit Teleutosporen.

Versuchsreihe XIV.

Am 30. Oktober 1904 sammelte ich am Fußweg zwischen dem Oberrn Steinberg und dem Oberhornsee (Berner Oberland) Teleutosporen einer *Melampsora* auf *Salix reticulata*. Herr Prof. Dr. Ed. Fischer⁵⁾ hatte dort schon im Juli 1902 uredobesetzte *Salix reticulata* dicht neben caeomatragenden *Saxifraga aizoides* beobachtet. Da aber *Melampsora Larici-Retusae* in den Kulturversuchen auch auf *Salix reticulata* übergegangen war, so schien auch *Larix* als *Caeoma*-Wirt nicht ausgeschlossen.

Das gesammelte Material wurde am 26. April 1905 auf folgende Pflanzen aufgelegt:

| | |
|-----------------------------------|----------------------------------|
| XIV 1 <i>Saxifraga aizoides</i> , | XIV 4 <i>Evonymuseuropaeus</i> , |
| 2 u. 3 <i>Larix decidua</i> , | 5 <i>Ribes alpinum</i> . |

Schon am nächsten Tage waren die aufgelegten Weidenblätter auf

1) Schneider, O., Weitere Versuche mit schweiz. Weidenrostpilzen. [2. Vorl. Mitt.] (Centralblatt. Abt. II. Bd. XV. 1905. p. 232.)

2) Jacky, Berichte der schweiz. bot. Ges. 1899. Heft 9.

3) Fischer, Ed., Ber. der schweiz. bot. Ges. Heft 14 u. 15. 1904 u. 1905.

4) Klebahn, Kulturversuche XII. 1905.

5) Fischer, Ed., Die Uredineen der Schweiz. p. 497.

der Unterseite ganz gelb, was von der massenhaften Basidiosporenbildung herrührte.

4. Mai. Kein Infektionsresultat bemerkbar.

10. Mai. *Larix XIV 2* trägt ganz spärlich Pykniden. Alle andern Pflanzen scheinen gesund.

13. Mai. *Larix 2* besitzt 4 *Caeoma*-Lager. *Larix 3* einige Pykniden.

18. Mai. Auf *Larix 2* sind 5 *Caeoma*-Lager, sonst wie oben.

Schon in Versuchsreihe IV machte ich auf den Kälterückschlag, der im Mai 1905 eintrat, aufmerksam. Auch hier ist die ungemein langsame *Caeoma*-Entwicklung zweifellos auf den gleichen Grund zurückzuführen. Den Beweis für diese Annahme leistet Reihe XV. Dieselbe wurde 4 Wochen später eingeleitet und lieferte schon nach 14 Tagen reichliches *Caeoma*, während in Reihe XIV 3 Wochen nach der Vornahme des Versuches erst auf einer der Lärchen 5 *Caeoma*-Lager vorhanden waren.

22. Mai. *Larix XIV 2* und *3* sind mit sehr zahlreichen *Caeoma*-Lagern besetzt.

Die übrigen Versuchspflanzen, von denen *Saxifraga aizoides* besonders gründlich kontrolliert wurde, sind auch noch am 30. Mai und am 6. Juni vollständig gesund.

Aus dieser Versuchsreihe geht mit aller wünschbaren Deutlichkeit hervor, daß die *Melampsora* auf *Salix reticulata* vom Oberhornsee zum *Caeoma*-Wirt *Larix* und nicht *Saxifraga aizoides* hat. Wo das *Caeoma* auf *S. aizoides* hingehört, bleibt demnach noch unentschieden.

Versuchsreihe XV.

Eine Bestätigung des in XIV erlangten Resultates brachten Teleosporen auf *Salix reticulata*, die ich am 23. Oktober 1904 südlich der Bahnstation auf der Schynigen Platte (Berner Oberland) gesammelt hatte.

Ich brachte sie am 22. Mai 1905 auf:

XV 1 u. 2 *Larix decidua*,
3 *Ribes alpinum*,
4 *Saxifraga aizoides*.

25. Mai. Der Objektträgerversuch zeigt viele Basidiosporen.

26. Mai. Beim Abnehmen der Glasglocken zeigt es sich, daß besonders das Infektionsmaterial auf *Larix 1* gut gekeimt hat.

30. Mai. Noch keine Infektion bemerkbar.

6. Juni. *Larix 1* trägt reichlich *Caeoma*, *Larix 2* viele Pykniden und *Caeoma*. *Saxifraga* und *Ribes* bleiben dauernd pilzfrei.

Ergebnis der Versuchsreihen XIV u. XV.

Die *Melampsora* auf *Salix reticulata* vom Oberhornsee und von der Schynigen Platte bildet ihr *Caeoma* auf *Larix decidua*, nicht aber auf *Saxifraga aizoides*, *Evonymus europaeus* und *Ribes alpinum*.

b) Infektionsversuche mit *Caeoma*- und Uredosporen.

Um den Kreis der Weiden zu bestimmen, die diesem Pilze als Nährpflanzen dienen, wurden Rückimpfungen auf alpine und nicht alpine Weiden unternommen.

Versuchsreihe XVI.

Caeomasporen von *Larix* XIV 2 und 3 wurden am 24. Mai 1904 auf folgende Weiden zerstäubt:

| | | | |
|------------|---------------------------|--------|-----------------------|
| XVI 1 u. 2 | <i>Salix reticulata</i> , | XVI 10 | <i>Salix aurita</i> , |
| 3 u. 4 | " <i>retusa</i> , | 11 | " <i>cinerea</i> , |
| 5 | " <i>serpyllifolia</i> , | 12 | " <i>hastata</i> , |
| 6 | " <i>herbacea</i> , | 13 | " <i>nigricans</i> , |
| 7 | " <i>daphnoides</i> , | 14 | " <i>incana</i> , |
| 8 | " <i>acutifolia</i> , | 15 | " <i>purpurea</i> , |
| 9 | " <i>Capraea</i> , | 16 | " <i>viminalis</i> . |

30. Mai. Keine Infektion.

5. Juni: Bei einer flüchtigen Durchsicht stellt es sich heraus, daß *Salix reticulata* 1 und 2 und *S. hastata* massenhaft Caeoma tragen.

9. Juni. Die beiden *S. reticulata* sind äußerst stark infiziert; kein einziges Blatt ist mehr pilzfrei. Die Uredo-Lager, die sich ohne Ausnahme auf der Blattunterseite bilden, lassen sich auch auf der Blattoberseite als gelbe, von den Blattnerven begrenzte, viereckige Flecken erkennen. *S. hastata* ist ebenfalls äußerst stark befallen; hier bildet die Uredo mehr große, runde Infektionsstellen, die oft einen Durchmesser von mehr als 5 mm erreichen.

S. herbacea trägt auf ihren 45 Blättern nur 5 zerstreute kleine Lager.

Die beiden *S. retusa*, die 55 resp. 70 wohlausgebildete Blätter besitzen, und *S. serpyllifolia* mit 90, weisen nicht die geringste Infektion auf, ebensowenig alle anderen Versuchspflanzen.

18. Juni. Die Uredo-Lager auf *S. reticulata* und *hastata* haben sich noch vermehrt, dort stets durch die Blattadern begrenzt, hier große runde Sporenhaufen bildend. Die Anatomie der Nährpflanze scheint auf die Art des Auftretens ein und desselben Pilzes von großem Einfluß zu sein.

Vom 18. Juni an läßt sich die rasch zunehmende Teleutosporenbildung deutlich verfolgen. Auch am 26. Juni waren *S. retusa*, *serpyllifolia*, *daphnoides*, *acutifolia*, *Capraea*, *aurita*, *cinerea*, *nigricans*, *incana*, *purpurea* und *viminalis* noch vollständig gesund.

Versuchsreihe XVI zeigt in schöner Weise, daß wir es hier mit einem neuen Pilze zu tun haben, der sich biologisch von allen bisher untersuchten Formen deutlich unterscheidet.

Zur Bestätigung dieses Resultates wurden weitere Versuche vorgenommen.

Versuchsreihe XVII.

Uredo von *Salix reticulata* XVI 1 und 2 brachte ich am 13. Juni 1905 auf:

| | | | |
|--------------|--------------------------|---------|-------------------------|
| XVII 1 und 2 | <i>Salix reticulata</i> | XVII 13 | <i>Salix daphnoides</i> |
| 3 | " <i>retusa</i> , | 14 | " <i>Capraea</i> , |
| 4 | " <i>serpyllifolia</i> , | 15 | " <i>arbuscula</i> , |
| 5 und 6 | " <i>herbacea</i> , | 16 | " <i>pentandra</i> , |
| 7 | " <i>Jacquiniana</i> , | 17 | " <i>amygdalina</i> , |
| 8 | " <i>incana</i> , | 18 | " <i>aurita</i> , |
| 9 | " <i>elegantissima</i> , | 19 | " <i>repens</i> , |
| 10 | " <i>viminalis</i> , | 20 | " <i>acutifolia</i> , |
| 11 | " <i>Russeliana</i> , | 21 | " <i>cinerea</i> , |
| 12 | " <i>fragilis</i> , | 22 | " <i>alba</i> . |

Leider stand mir von *S. hastata* keine Versuchspflanze mehr zur Verfügung.

Schon wenige Tage nach der Einleitung des Versuches bemerkte ich auf *S. Capraea* zwei *Uredo*-Lager. Daß Fremdinfection daran schuld sein mußte, lag auf der Hand, um so mehr als die von mir nicht infizierten Kontrollexemplare von *S. Capraea* ebenfalls angesteckt waren. XVII 14 wurde deshalb aus der Versuchsreihe eliminiert, was um so besser geschehen konnte, als *S. Capraea* im vorigen Versuch ein zuverlässiges negatives Resultat ergeben hatte.

26. Juni. *Salix reticulata* XVII 1 ist sehr stark mit *Uredo* besetzt, alle Blätter sind gleichmäßig infiziert.

S. reticulata 2 ist verdorrt. Auf dem einzigen noch grünen Blatte finden sich 8 *Uredo*-Lager.

S. herbacea 5 trägt eine, *herbacea* 6 drei Infektionsstellen. *S. retusa* und *serpyllifolia*, welche zusammen wohl über 100 gesunde Blätter aufweisen, sowie alle übrigen Versuchspflanzen bleiben während der ganzen Versuchsdauer gesund.

Die beiden letzten Versuchsreihen stimmen also in ihren Ergebnissen aufs genaueste überein.

Versuchsreihe XVIII.

Da mir in Reihe XVI von *Salix hastata* keine Kontrollpflanzen zur Verfügung standen, war es immerhin wünschenswert, mit *Uredo* von *S. hastata* XVI 12 noch experimentell nachzuweisen, daß dieselbe mit der *Uredo* auf *S. reticulata* des gleichen Versuches identisch sei. Am 14. Juni 1905 wurde der betreffende Versuch eingeleitet.

XVIII 1 u. 2 *Salix reticulata*,
3 „ *retusa*.

Am 26. Juni waren die beiden *Salix reticulata* sehr stark pilzbefallen, *retusa* dagegen völlig gesund.

Versuchsreihe XIX.

Infektionsmaterial von einem andern Standort herrührend ergab ein ganz übereinstimmendes Resultat. Am 8. Juni 1905 leitete ich mit dem auf *Larix* XV 1 und 2 erhaltenen *Caeoma* einen Versuch ein.

XIX 1 u. 2 *Salix reticulata*, XIX 5 *Jacquiniana*,
3 „ *retusa*, 6 *arbuscula*,
4 „ *serpyllifolia*, 7 *cinerea*.

Diese *Melampsora* von der Schynigen Platte infizierte die beiden *Salix reticulata* ungemein kräftig, während alle anderen Weiden am 26. Juni noch absolut pilzfrei waren.

Ergebnis der Versuchsreihen XVI — XIX.

Melampsora Larici-Reticulatae, die wie *M. Larici-Nigricantis* und *M. Larici-Purpureae* ihr *Caeoma* auf *Larix decidua* bildet, lebt in der *Uredo*- und *Teleutogeneration* auf *Salix reticulata* und *S. hastata*, infiziert dagegen *S. herbacea* nur schwach, gar nicht *S. retusa*, *serpyllifolia*, *daphnoides*, *acutifolia*, *Capraea*, *aurita*, *cinerea*, *nigricans*, *incana*, *purpurea*, *viminalis*, *arbuscula*, *Jacquiniana*, *elegantissima*, *Russelliana*, *fragilis*, *pentandra*, *amygdalina*, *repens* und *alba*.

Melampsora Larici-Reticulatae entspricht morphologisch dem *Epitea*-Typus. Biologisch unterscheidet sie sich von allen bisher

untersuchten *Melampsora*-Arten dadurch, daß sie keine Hauptnährpflanze mit denselben gemein hat.

Bemerkung zu den Infektionsversuchen I — XIX.

Ueber das Verhältnis der in dieser Infektionsreihen untersuchten *Larix*-*Melampsoren* zueinander und zu den nächstverwandten Formen von *Klebahn* und *Fischer* gibt Tabelle 2 Aufschluß.

4. *Melampsora-Evonymi-Incanae*¹⁾ nov. f. sp.

Mit *Melampsoren* auf *Salix incana* wurde bis jetzt nie experimentiert, ebensowenig ist diese Weide je in Infektionsversuche einbezogen worden. Diese Tatsache kann uns nicht wundern; denn in Nordwestdeutschland²⁾, wo *Klebahn* die grundlegenden Kulturversuche mit Weidenrostpilzen vornahm, scheint *S. incana* ganz zu fehlen. In der Umgebung von Bern gehört diese Species mit zu den häufigsten Weiden und gegen den Spätherbst hin findet man ihre unterseits graufilzigen Blätter mit den Teleutosporenlagern einer *Melampsora* bedeckt. Durch die im folgenden geschilderten Infektionsversuche gelang es mir, den Entwicklungsgang dieser heterözischen Uredinee klarzulegen.

a) Infektionsversuche mit Teleutosporen.

Versuchsreihe XX.

Mit Teleutosporen auf *Salix incana*, die am 8. November 1903 am oben erwähnten Standort im Selhofenmoos gesammelt wurden, leitete ich am 29. April 1904 eine Infektionsreihe ein, um den *Caeoma*-Wirt festzustellen.

XX 1 u. 2 *Larix decidua*, XX 8 *Ribessanguineum*,
3 u. 4 *Evonymuseuropaeus*, 9 u. 10 *Allium ursinum*,
5 u. 6 *Ribes grossularia*, 11 u. 12 *Platantherabifolia*.
7 „ *aureum*,

Ich bezog in diesen Versuch alle mir zur Verfügung stehenden Pflanzen ein, die als *Caeoma*-Wirte in Betracht fallen konnten.

Am 30. April waren die aufgelegten Weidenblätter auf der Unterseite gelb, und unter dem Mikroskop fanden sich die meisten Teleutosporen infolge der Keimung schon entleert.

Die Kontrollen vom 9. und 18. Mai waren resultatlos.

23. Mai. Die beiden *Evonymus* sind infiziert. *Evonymus* XX 3 trägt am Stengel junge *Caeoma*-Lager und Pykniden, XX 4 ältere Lager auf der Unterseite dreier Blätter. Die befallenen Blätter sind im Unterschied zu den gesunden leicht kraus gewellt.

Am 17. Juni ist immer noch *Caeoma* vorhanden, die übrigen Pflanzen bleiben während der ganzen Versuchsdauer pilzfrei.

Bei der Kontrollierung der Versuchspflanzen machte ich insofern einen Fehler, als ich analog dem Wirtswechsel bei *Melampsora Larici-Nigricantis* und *M. Larici-Purpureae* auch für diesen Pilz *Larix decidua* als *Caeoma*-Nährpflanze annahm. Infolgedessen wurden *Evonymus*, *Ribes*, *Allium* und *Platanthera* jeweils etwas flüchtig durchgesehen, so daß ich die *Caeoma*-Lager auf *Evonymus* erst entdeckte, als die Infektion schon weit vorgeschritten war.

1) Schneider, O., Centralblatt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. p. 222.

2) Buchenau, l. c.

Ergebnis der Versuchsreihe XX.

Die *Melampsora* auf *Salix incana* im Selhofenmoos bildet ihr *Caeoma* auf *Evonymus europaeus*, nicht aber auf *Larix decidua*, *Ribes grossularia*, *R. aureum*, *R. sanguineum*, *Allium ursinum* und *Platanthera bifolia*.

b) Infektionsversuche mit *Caeoma*- und Uredosporen.

Für die Rückimpfung auf Weiden stand reichliches *Caeoma*-Material zur Verfügung:

- 1) das selbstgezogene aus XX,
- 2) *Caeoma* auf *Evonymus* aus der Umgebung von Bern.

Es war hier eher ein zuverlässiges Resultat mit *Caeoma*-Material aus dem Freien zu erwarten als bei den *Larix*-*Melampsoren*, da nach den bisherigen Untersuchungen¹⁾ *Evonymus* nur von einer einzigen *Melampsora* befallen wird.

Schon vor mehr als zwei Jahrzehnten hatten Nielsen und Rostrup²⁾ festgestellt, daß *Caeoma Evonymi* in den Entwicklungsgang einer heterözischen *Melampsora* gehört; später untersuchte Klebahn dieselbe näher und bewies, daß *Melampsora Evonymi*-*Capraearum* Kleb. mit den Uredo- und Teleutosporen *Salix cinerea* und *aurita*, spärlicher *S. Capraea* und *S. cinerea viminalis* bewohnt. Da *Salix incana*, wie schon erwähnt, in Norddeutschland fehlt, wurde von Klebahn ihr Verhalten zu *M. Evonymi*-*Capraearum* nicht geprüft. Die folgenden Versuche hatten also den Zweck, festzustellen, ob die *Melampsora* auf *Salix incana*, das *Caeoma* auf *Evonymus* bei Bern und dasjenige in Norddeutschland identisch seien. In diesem Falle hätten wir dann *Melampsora Evonymi*-*Capraearum* Kleb. hier vor uns gehabt.

Versuchsreihe XXI.

Das auf *Evonymus europaeus* in Reihe XX erhaltene *Caeoma* brachte ich am 2. Juni 1904 auf:

| | |
|-----------------------------|-----------------------------|
| XXI 1 <i>Salix incana</i> , | XXI 5 <i>Salix aurita</i> , |
| 2 " <i>nigricans</i> , | 6 " <i>retusa</i> , |
| 3 " <i>Capraea</i> , | 7 " <i>herbacea</i> . |
| 4 " <i>cinerea</i> , | |

9. Juni. Keine Infektion.

13. Juni. *Salix incana* ist stark mit Uredo besetzt, alle andern Pflanzen sind pilzfrei.

20. Juni. *Salix incana* ist äußerst kräftig infiziert. Die andern Versuchspflanzen sind auch am 6. Juli noch ganz gesund.

Versuchsreihe XXII.

Trotz der vorgerückten Jahreszeit fanden sich an der Aare bei Bern am 1. Juni 1904 noch einige *Evonymus*-Büsche mit allerdings sehr spärlichen *Caeoma*-Lagern besetzt. Obschon das Material etwas alt schien, wurde damit am 3. Juni eine Versuchsreihe eingeleitet.

| | |
|------------------------------|-------------------------------|
| XXII 1 <i>Salix incana</i> , | XXII 4 <i>Salix Capraea</i> , |
| 2 " <i>nigricans</i> , | 5 " <i>cinerea</i> , |
| 3 " <i>purpurea</i> , | 6 " <i>reticulata</i> . |

9. Juni. Keine Infektion.

1) Klebahn, Kulturversuche IX.

2) id.

13. Juni. *Salix incana* ist stark infiziert, *S. Capraea* trägt ein *Uredo*-Lager.

6. Juli. *S. incana* ist über und über mit *Uredo* bedeckt. So trägt z. B. ein mittelgroßes, zudem noch angefressenes Blatt nach meiner Zählung mit der Lupe 287 *Uredo*-Lager.

Salix Capraea weist jetzt 8 Flecken auf. Dieselben sind aber zweifellos auf Fremdinfection zurückzuführen,

1) weil seit Anfang Juli alle Versuchsexemplare von *Salix Capraea* — auch die von mir nicht infizierten — pilzbefallen sind;

2) weil in den Versuchen XXI und XXIII, von denen der letztere ebenfalls mit *Caeoma*-Material aus dem Freien ausgeführt wurde, *Salix Capraea* vollkommen pilzfrei blieb.

Salix nigricans, *purpurea*, *cinerea* und *reticulata* blieben während der ganzen Versuchsdauer von Reihe XXII gesund.

Versuchsreihe XXIII.

Caeoma auf *Evonymus europaeus* aus der Umgebung von Thörishaus (Kt. Bern), das Herr cand. phil. Rytz dort für mich sammelte und wofür ich ihm bestens danke, bestätigte die beiden letzten Versuchsreihen. Das Infektionsmaterial wurde am 18. Mai 1905 auf folgende Weiden zerstäubt:

| | | | |
|---------|-----------------------|---------|-------------------------|
| XXIII 1 | <i>Salix incana</i> , | XXIII 5 | <i>Salix fragilis</i> , |
| 2 | " <i>nigricans</i> , | 6 | " <i>aurita</i> , |
| 3 | " <i>Capraea</i> , | 7 | " <i>viminalis</i> . |
| 4 | " <i>daphnoides</i> , | | |

26. Mai. Kein Resultat.

30. Mai. *Salix incana* trägt auf der Unterseite mehrerer Blätter zerstreute *Uredo*-Lager.

10. Juni. *S. incana* ist äußerst stark infiziert; alle andern Versuchspflanzen sind gesund.

Auch am 4. Juli ist XXIII 1 mit Hunderten von *Uredo*-Lagern besetzt; Teleutosporenlager sind noch keine gebildet. Alle andern Versuchspflanzen bleiben vollständig pilzfrei.

Versuchsreihe XXIV.

Eine Infektionsreihe mit *Uredosporen* auf *Salix incana* aus XXI wurde am 17. Juni 1904 eingeleitet.

| | | | |
|--------|------------------------|--------|----------------------------|
| XXIV 1 | <i>Salix incana</i> , | XXIV 6 | <i>Salix aurita</i> , |
| 2 | " <i>fragilis</i> , | 7 | " <i>repens</i> , |
| 3 | " <i>viminalis</i> , | 8 | " <i>Russeliana</i> , |
| 4 | " <i>grandifolia</i> , | 9 | " <i>Hegetschweileri</i> . |
| 5 | " <i>cinerea</i> , | | |

Am 6. Juli war *Salix incana* wieder sehr stark infiziert, während alle andern auch 3 Wochen später noch völlig pilzfrei waren.

Ergebnis der Versuchsreihen XXI—XXIV.

Die *Melampsora* auf *Salix incana* und das *Caeoma Evonymi* gehören ein und demselben Pilze an. Derselbe ist aber mit *Melampsora Evonymi-Capraearum* Kleb. nicht identisch, weil er *Salix cinerea*, *aurita* und *Capraea* nicht zu infizieren vermag. *Melam-*

psora Evonymi-Incanae konnte in allen vier Versuchsreihen immer nur *Salix incana* befallen (siehe Tabelle 3).

5. *Melampsora Ribesii-Grandifoliae*¹⁾ nov. f. sp.

Mit *Melampso*ren auf *Salix grandifolia* wurde bis jetzt nicht experimentiert; diese Weide fehlt in Nordwestdeutschland²⁾ und ist wohl aus diesem Grunde von Klebahn auch nie auf ihr Verhalten zu andern *Melampsora*-Arten geprüft worden. In der Schweiz ist *Salix grandifolia* stellenweise recht häufig.

Dagegen liegen zahlreiche Infektionsversuche mit *Caeoma* auf den verschiedenen *Ribes*-Arten vor.

Melampsora Ribesii-Viminalis Kleb.³⁾ bildet ihr *Caeoma* auf *Ribes grossularia*, *rubrum*, *alpinum*, schwächer auf *aureum* und *nigrum*, Spermogonien auf *Ribes sanguineum*, Uredo- und Teleutosporen dagegen nur auf *Salix viminalis*.

Melampsora Ribesii-Purpureae Kleb.⁴⁾ lebt auf *Ribes grossularia* und *alpinum*, spärlicher auf *aureum* und *sanguineum* und infiziert dann *Salix-purpurea* reichlich, schwächer *S. purpurea viminalis* und *daphnoides*. Eine zweifelhafte Infektion ergaben *Salix aurita* und *cinerea*.

Melampsora Ribesii-Auritae Kleb.⁵⁾ erzeugt auf *Ribes alpinum* und *grossularia* reichlich, auf *R. nigrum* weniger *Caeoma*-Lager. Die Rückinfektion hatte Erfolg auf *Salix aurita* und schwach auf *S. Capraea*, *cinerea* und *cinerea tricolor*.

Die folgenden mit schweizerischem Infektionsmaterial vorgenommenen Kulturversuche ergaben auch hier wieder neue biologische Resultate.

Versuchsreihe XXV.

Am 20. November 1904 sammelte ich am Creux-du-Vau (Kl. Neuenburg) Teleutosporen auf der Blattunterseite von *Salix grandifolia*, die in Bern überwintert wurden. Auf der Oberseite der gleichen Weidenblätter hatte sich zudem noch die morphologisch leicht unterscheidbare *Melampsora Larici-Capraearum* Kleb. angesiedelt.

Dieses Pilzmaterial wurde am 18. April 1905 auf folgende Versuchspflanzen aufgelegt:

| | | | |
|------------|-------------------------------|-------|---------------------------|
| XXV 1 u. 2 | <i>Larix decidua</i> , | XXV 7 | <i>Ribes sanguineum</i> , |
| | 3 <i>Evonymus europaeus</i> , | 8 | " <i>aureum</i> , |
| | 4 <i>Ribes alpinum</i> , | 9 | " <i>rubrum</i> . |
| 5 u. 6 | " <i>grossularia</i> , | | |

Es mag hier gleich erwähnt werden, daß am Creux-du-Vau schon zu wiederholten Malen *Caeoma* auf *Ribes alpinum* (siehe Versuchsreihe XXVII) beobachtet worden war. Der Gedanke einer Zusammengehörigkeit desselben mit unserer *Melampsora* auf der Blattunterseite von *Salix grandifolia* war infolgedessen naheliegend.

Am 20. April zeigt der Objektträgerversuch starke Basidiosporenbildung.

1) Schneider, O., Centralblatt. Abt. II. Bd. XV. 1905. p. 232ff.

2) Buchenau, J. c.

3) Klebahn, Kulturversuche VIII und IX.

4) Klebahn, Kulturversuche IX.

5) Klebahn, Kulturversuche IX.

10 Tage nach dem Auflegen des Materials ist noch kein Infektionsresultat nachzuweisen.

1. Mai. *Ribes alpinum* ist mit vielen Pykniden und jungen *Caeoma*-Lagern besonders blattoberseits stark besetzt. *Ribes aureum* trägt einige Pykniden. Die übrigen *Ribes*, sowie *Evonymus* sind ganz pilzfrei.

Larix 2 zeigt dagegen einige Infektionsstellen, die zweifellos von der oben erwähnten *Melampsora Larici-Capraearum* herrühren. Um eine Verunreinigung des *Caeoma*-Materials auf *Ribes alpinum* zu verhindern, wurden die beiden Lärchen in einen anderen Versuchsraum gebracht und dort dann weiter beobachtet (siehe unter *b Melampsora Larici-Capraearum* Kleb.).

3. Mai. Auch auf *Ribes sanguineum* treten vereinzelte Pykniden auf.

13. Mai. *Ribes alpinum* ist auf Blattseite und Blattstiel stark mit *Caeoma* besetzt; daneben finden sich noch viele Pykniden.

Ribes aureum und *R. sanguineum*, beides große kräftige Exemplare mit vielen Blättern, tragen spärliche *Caeoma*-Lager. Die beiden scheinen von unserem Pilze weniger leicht befallen zu werden.

Die beiden Versuchspflanzen von *Ribes grossularia*, sowie *R. rubrum* und *Evonymus europaeus* blieben während der ganzen Versuchsdauer vollständig pilzfrei.

(Schluß folgt.)

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines.

Teichert, Kurt, Die Bakterien. Berlin (Hillger) 1905. 87 p. (Hillgers ill. Volksbücher 40.)
20 Fig. —,30 M.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Cache, Ar., Rolle des MgH_4PO_4 bei der Zubereitung von Nährböden. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1905. Heft 2. p. 255—258.)

Heidenhain, Martin, Die Trichloressigsäure als Fixierungsmittel. (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. u. f. mikrosk. Technik. Bd. XXII. 1905. Heft 3. p. 321—324.)

Küster, E., Eine neue Saugvorrichtung für Pipetten zur genauen Abmessung kleinster Flüssigkeitsmengen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1905. Heft 2. p. 270—272. 1 Fig.)

Rodriguez, L., De l'emploi de la pomme de terre violette comme milieu de culture. (Arch. de méd. expér. Année XVII. 1905. N. 6. p. 713—717.)

Saathoff, Die Methyl-Pyronin-Methode für elektive Färbung der Bakterien im Schnitt. (Deutsche med. Wchnschr. Jg. XXXI. 1905. N. 51. p. 2047—2048.)

Schlitzner, August, Ueber das Wachstum der Bakterien auf wasserarmen Nährböden. Diss. med. Würzburg 1905. 8^o.

Terburgh, J. Th., Die auf dem v. Drigalski-Conradischen Nähragar wachsenden Bacillen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1905. Heft 2. p. 258—265.)

Systematik, Morphologie.

Berghaus, Der *Bacillus faecalis alcaligenes*. (Hyg. Rundsch. Jg. XV. 1905. N. 23. p. 1185—1196.)

Cholodkovsky, N., Eine Idiogenes-Species mit wohlentwickeltem Scolex. (Zool. Anz. Bd. XXIX. 1905. N. 18. p. 580—583.)

- Eriksson, Jakob**, Ueber das vegetative Leben der Getreiderostpilze. 2. *Puccinia dispersa* Eriks. In der heranwachsenden Roggenpflanze. — 3. *Puccinia glaucarum* (Sohm.) Eriks. u. Hen. In der heranwachsenden Gerstenpflanze. (K. Svenske Akad. Handl. Bd. XXXVIII. 1904. N. 3. 18 p. 3 Taf.) — 4. *Puccinia graminis* Pers. In der heranwachsenden Getreidepflanze. (Ib. Bd. XXXIX. 1905. N. 5. 41 p. 2 Taf.)
- Hennings, P.**, Fungi japonici VI. [Schluß.] (Bot. Jahrb. f. System. Pflanzengesch. u. -geogr. Bd. XXXVII. 1905. Heft 2. p. 161—166.)

Milch, Molkerei.

- Doane, C. F.**, The milk supply of twenty-nine southern cities. (U. S. Depart. of agric. Bureau of animal industry. Bull. N. 70. 1905. 40 p.)
- Konrádi, Daniel**, Typhusbacillen in der Milch. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1905. Heft 1. p. 31—37.)
- Morres, Wilhelm**, Untersuchungen über eine einfache und zuverlässige Methode zur Haltbarkeitsprüfung der Milch. (Milch-Ztg. Leipzig. Jg. XXXIV. 1905. N. 47. p. 573—575.)
- Weller, H.**, Die Bestimmung des Schmutzgehaltes in der Milch. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. X. 1905. Heft 10. p. 591—596.)

Wein, Weinbereitung.

- Galler, H.**, Ueber den Einfluß der Essigsäure auf das Leben der Weinhefen bei der Umgärung leicht stichiger Weine. (2. Bericht d. kgl. Württ. Weinbau-Versuchsanst. Weinsberg über ihre Tätigkeit i. Jahre 1905. p. 56—57.)
- Meissner**, Bericht über den Verlauf des vom 28. November bis 10. Dezember 1904 in der Weinbau-Versuchsanstalt in Weinsberg abgehaltenen Kurses über Weingärung, Hefereinzucht u. s. w. (Der Weinbau. Jg. IV. 1905. N. 1. p. 9.)
- , Mitteilungen aus der kgl. Württ. Weinbauversuchsanstalt in Weinsberg. Bericht über den Verlauf und die Ergebnisse des vom 9.—21. Januar 1905 in d. k. Württ. Weinbauversuchsanstalt zu Weinsberg abgehaltenen Spezialkurses über Weingärung, Weinuntersuchung und Weinbehandlung für Verwalter größerer württembergischer Weingüter. (Der Weinbau. Jg. IV. 1905. N. 3. p. 36—42.)
- , Warnung vor dem Geheimschönungsmittel „Klärung“ D. R. P. 138062 von Jungnickel in Hamburg. (Der Weinbau. Jg. IV. 1905. N. 8. p. 122—124.)
- , Mitteilungen aus der kgl. Württ. Weinbauversuchsanstalt in Weinsberg. Ueber einen silberglänzenden Ueberzug an Rebblättern. (Der Weinbau. Jg. IV. 1905. N. 11. p. 171—172.)
- , Ueber den Zusatz von Chlorammonium (Salmiak) und phosphorsaurem Ammonium zu Wein. (Der Weinbau. Jg. IV. 1905. N. 11. p. 172—175.)
- , Ueber die aus „Mostsubstanzen“ hergestellten Moste. (Der Weinbau. Jg. IV. 1905. N. 11. p. 175—177.)
- Reis, Felix**, Ueber die Wirkung von kohlensaurem Kalk auf essigstichige Weine und Moste. (Der Weinbau. Jg. IV. 1905. N. 8. p. 125—126.)
- Seeger**, Einiges über die Mißstände vor und während der Weinlese. (Der Weinbau. Jg. IV. 1905. N. 8. p. 130.)
- Thomas, G.**, L'action clarifiante du froid sur les vins. (Moniteur vinicole. Année L. 1905. N. 92. p. 366.)
- Windisch, Karl**, Wie lange sollen die Weine auf den Trestern belassen werden? (Der Weinbau. Jg. IV. 1905. N. 4. p. 52—57.)

Bier, Bierbrauerei.

- (Černý.) Eiserne Gärbottiche. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVIII. 1905. N. 48. p. 788—792. [Oesterr. Brauer- u. Hopfen-Ztg. Jg. 1905. N. 6 u. 7.]

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitsserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

- Augstin, M.**, Der Krebs der Obstbäume und seine Bekämpfung. (Landbote. Jg. XXVI. 1905. N. 92. p. 991.)
- Börner, Carl**, *Hadena secalis* (L.) als Roggenschädling. (Arb. a. d. k. biol. Anst. f. Land- u. Forstwirtsch. Bd. V. 1905. Heft 2. p. 90—97. 9 Fig.)
- Bretschneider, Arthur**, Ueber das Faulen der Aepfel. (Oesterr. landw. Wehnl. Jg. XXXI. 1905. N. 43. p. 342—344.)
- Bürki**, Die verheerenden Pilzkrankheiten der Weinrebe im Jahre 1905. (Schweizer. landw. Ztschr. Jg. XXXIII. 1905. Heft 44. p. 1084—1086.)
- Die diesjährige Krankheit der Reben. (Prakt. Ratgeber in Obst- u. Gartenbau. Jg. XX. 1905. N. 41. p. 366—367.)

- Froggatt, Walter P.**, The farmers garden and its enemies. (Agric. Gaz. of New South Wales. Vol. XVI. 1905. P. 10. p. 1034—1040. Taf. u. Fig.)
- Fuller, Claude**, The potato moth. (Natal agric. Journ. Vol. VIII. 1905. N. 9. p. 873—876. 1 Taf.)
- Grosser**, Wann können wir in diesem Herbste das Ende der Schwärmzeit der Getreidefliegen erwarten? (Ztschr. d. Landwirtschaftskammer f. d. Prov. Schlesien. Jg. IX. 1905. Heft 40. p. 1301—1304. Fig.)
- Hemmann**, Ueber den Schaden des Kiefernbaumschwammes. (Allg. Forst- u. Jagd-Ztg. Jg. LXXXI. 1905. p. 336—341.)
- Hilkowitz, G. und Neubauer, H.**, Mondbohne, eine giftige Bohnenart (*Phaseolus lunatus* L.) (D. Landwirtschaftsbeamte. Jg. XIII. 1905. N. 10. p. 76—78.)
- Hiltner, L.**, Einige Beobachtungen über das Auftreten von Krankheiten und Schädlingen der Kulturpflanzen in Bayern im Sommer 1905. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. III. 1905. Heft 9. p. 97—101; Heft 10. p. 113—118. 2 Fig.)
- Hollrung**, Ueber die Behandlung der Reblaus in den Weinbergen des Saale-Unstruttals. (Landw. Wehnsch. f. d. Prov. Sachsen. Jg. VII. 1905. N. 46. p. 381—383. 1 Fig.)
- Koch, Rudolf**, Die Maulwurfsgrille (*Gryllotalpa vulgaris* Latr.) als Rindenschädling junger Fichtenpflanzen. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. Jg. III. 1905. Heft 11. p. 470—476.)
- Köck, G.**, Die Knollenfäule der Kartoffel und ihre Bekämpfung. (Oesterr. landw. Wehnl. Jg. XXXI. 1905. N. 40. p. 322.)
- Korff, G.**, Ueber das Auftreten schädlicher Getreidemilben in Bayern im Sommer 1905. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. III. 1905. Heft 10. p. 106—113. 4 Fig.)
- Mac Dougall, R. Stewart**, Gall-gnats injurious to osiers and willows. (Journ. of the board of agric. Vol. XII. 1905. N. 8. p. 499—503. 5 Fig.)
- Meissner**, Ueber die Lebensgeschichte des Veranlassers der Blattfallkrankheit des Rebstockes und der Lederbeerenkrankheit. (Falscher Mehltau, *Peronospora viticola* de Bary.) (Der Weinbau. Jg. IV. 1905. N. 5. p. 65—68. 2 Fig.)
- , Die Entwicklungsgeschichte des *Oidium Tuckeri* Berk., des Veranlassers des wahren Mehltaus der Reben. (Traubenpilz, Traubenschimmel, Nebenschimmel, Aescherich.) (Der Weinbau. Jg. IV. 1905. N. 5. p. 68—70. 1 Fig.)
- , Mitteilungen aus der kgl. Weinbauversuchsanstalt in Weinsberg. 1. Verbänderungen an Trollingerblättern. (Der Weinbau. Jg. IV. 1905. N. 8. p. 117—118. 3 Fig.)
- , Ueber Blitzwirkung im Weinberg. (Der Weinbau. Jg. IV. 1905. N. 8. p. 119—122. 5 Fig.)
- Nüsslin, O.**, Der Fichtenborkenkäfer *Tomicus typographicus* L. im Jahre 1905 in Herrenwies und Pfullendorf. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. Jg. III. 1905. Heft 11. p. 450—468. 1 Fig.)
- Potato leaf-curl (*Macrosporium solani*). (Journ. of the board of agric. Vol. XII. 1905. N. 8. p. 476. 1 Fig.)
- Schoffer**, Was muß der Weingärtner von dem am 1. April 1905 in Kraft tretenden Reblausgesetz wissen? (Der Weinbau. Jg. IV. 1905. N. 4. p. 57—59.)
- , Neue Reblausherde! (Der Weinbau. Jg. IV. 1905. N. 8. p. 131.)
- Sedlaczek**, Einiges über Gallmilben. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. Jg. III. 1905. Heft 11. p. 462—464.)
- v. Seelhorst**, Die Runkelfliege (*Authomyia conformis* Fall.) (Hannoversche Land- u. forstw. Ztg. Jg. LVIII. 1905. N. 40. p. 917—918.)
- Sleepy disease of tomatoes (*Fusarium lycopersi*). (Journ. of the depart. of agric. Western Australia. Vol. XII. 1905. P. 2. p. 193—194.)
- Sorauer**, Frostwirkungen bei unseren Kulturpflanzen. (Nachrichten a. d. Klub d. Landwirte Berlin. 1905. N. 484. p. 4433—4436.)
- Untersuchung über eine auf schwedischen Heidelbeeren gefundene *Saccharomyces*-Art. (2. Bericht d. kgl. Württ. Weinbau-Versuchsanst. Weinsberg über ihre Tätigkeit i. Jahre 1905. p. 50—56.)
- Vibrans, G.**, Wurzelbrand der Zuckerrüben. (Dtsche landw. Presse. Jg. XXXII. 1905. N. 92. p. 767.)
- Wahl, Bruno**, Zur Kenntnis schädlicher Schmetterlingsraupen. 1. Die Raupe von *Plodia interpunctella* Hw. (Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. VIII. 1905. Heft 10. p. 950—954. 1 Taf.)
- White rust of cabbages. (Journ. of board of agric. Vol. XII. 1905. N. 8. p. 480—481. 2 Fig.)
- White rot of vines (*Coniothyrium diplodiella*). (Journ. of the board of agric. Vol. XII. 1905. N. 8. p. 494—496. Fig.)

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

- Aderhold, Rud.**, Zur Frage der Vernichtung der Pilze durch Eingraben. (Arb. a. d. k. biol. Anst. f. Land- u. Forstwirtschaft. Bd. V. 1905. Heft 2. p. 35—36.)

- Albrecht, H.**, Beseitigt rechtzeitig die Kohlstrünke. (Oesterr. landw. Wechnbl. Jg. XXXI. 1905. N. 43. p. 351—352.)
- von Boedecker**, Welches Verfahren wenden wir gegen den Steinbrand des Weizens an? (Hannoversche land- u. forstwirtschaftl. Ztg. Jg. LVIII. 1905. N. 39. p. 894—896.)
- Die Bekämpfung der Obstmade. (Land- u. forstwirtschaftl. Ztg. Jg. XX. 1905. N. 45. p. 263. [Königsb. land- u. forstw. Ztg.])
- Kulisch, Paul**, Was lehrt uns das diesjährige Auftreten der Peronospora, besonders auf den Trauben, für die zukünftige Bekämpfung der Krankheit? [Forts.] (Weinlaube. Jg. XXXVII. 1905. N. 45. p. 532—533.)
- Lounsbury, Chas. P.**, Natural enemies of the fruit fly. (Agric. Journ. of the Cape of Good Hope. Vol. XXVII. 1905. N. 4. p. 457—469.)
- Maxwell-Lefroy, H.**, Insecticides. (Tropical Agric. and mag. of the Ceylon agric. soc. N. Ser. Vol. XXV. 1905. N. 3. p. 464—466.)
- , The preservation of seed from insect attacks. (Tropical Agric. and mag. of the Ceylon agric. soc. N. Ser. Vol. XXV. 1905. N. 3. p. 467—468.)
- Mährlen**, Die Bekämpfung der Blattfallkrankheit und der Lederbeerenkrankheit. (Der Weinbau. Jg. IV. 1905. N. 5. p. 70—74.)
- , Die Bekämpfung des wahren Mehltaus. (Der Weinbau. Jg. IV. 1905. N. 5. p. 74—77.)
- Meissner**, Ueber die Wirkung der Kupferkalkbrühe und des Schwefels bei der Bekämpfung der Rebenkrankheiten. (Der Weinbau. Jg. IV. 1905. N. 5. p. 77.)
- , Ueber den Einfluß des Schwefels auf Stachelbeersträucher in den Weinbergen. (Der Weinbau. Jg. IV. 1905. N. 8. p. 126—127.)
- , Noch einige Bemerkungen über das Schwefeln und Spritzen der Reben. (Der Weinbau. Jg. IV. 1905. N. 6. p. 127—129.)
- Pflanzenschutz in England. Welche Maßnahmen werden in England zur Bekämpfung der Krankheiten und Beschädigungen der Kulturpflanzen empfohlen (Sammel-Ref.) 3. Black-Legor potato stem-rot. 4. Black scab of potatoes. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau- u. -schutz. Jg. III. 1905. Heft 9. p. 101—102.)
- Prevention of plant diseases by spraying. (Tropical Agric. and mag. of the Ceylon agric. soc. N. Ser. Vol. XXV. 1905. N. 3. p. 468—470.)
- Schalk**, Zur Bekämpfung der Kieferschütte. (Forstwirtschaftl. Centralbl. Jg. XXVII. 1905. Heft 11. p. 561—570. 1 Taf.)
- Seeger**, Praktische Erfahrungen über die Bekämpfung der Schildlaus. (Der Weinbau. Jg. IV. 1905. N. 4. p. 61—62.)
- v. Werenbach**, Zur Reblausbekämpfung in Tirol. (Weinlaube. Jg. XXXVII. 1905. N. 45. p. 531—532. [Tiroler landw. Blätter.])
- Zur Bekämpfung der Sauerwurmpuppen durch Abreiben der Rebstöcke. (Der Weinbau. Jg. IV. 1905. N. 8. p. 131—132. [Jahresber. d. kgl. Wein- u. Obstbauschule Neustadt a. d. H.])

Inhalt.

- | | |
|---|---|
| <p>Chodat, R. et Rouge, E., La Sycchymase ou le Labferment du Ficus Carica, p. 1.</p> <p>Gorini, C., Zur Priorität der Methode der Käseuntersuchung durch mikroskopische Schnittpräparate, p. 66.</p> <p>Osterwalder, A., Weitere Beiträge zur Kenntnis unserer Obstweihen, p. 35.</p> <p>v. Oven, Ernst, Eine neue Bakterien-erkrankung der Leguminosenfrüchte, p. 67.</p> | <p>Quehl, Alfred, Untersuchungen über die Myxobakterien, p. 9.</p> <p>Rodella, Antonio, Ueber die Bedeutung der streng anaëroben Fäulnisbacillen für die Käseerzeugung, p. 52.</p> <p>Schneider, Otto, Experimentelle Untersuchungen über schweizerische Weidenrostpilze, p. 74.</p> <p>Neue Litteratur, p. 93.</p> |
|---|---|

Nachdruck verboten.

Mitteilungen der österreichischen Versuchsstation und Akademie für
Brauinidustrie in Wien.

Ueber *Anomalus*-Hefen und eine neue Art derselben (*Willia Wichmanni*).

Von Dr. Heinrich Zikes.

Unter den Sproßpilzen ist keine Gruppe so scharf charakterisiert und so leicht von allen übrigen zu unterscheiden, wie die *Anomalus*-Gruppe. Das charakteristische Merkmal bildet die Entwicklung von hutförmigen, d. h. halbkugeligen, an der Basis mit einer Leiste versehenen Sporen. Wenngleich sich diese Sporenform bei den übrigen Saccharomycetinen nicht vorfindet, weist sie doch andererseits eine große Aehnlichkeit mit den Sporen von *Endomyces decipiens* auf, und kann man die *Anomalus*-Hefen als Uebergangsgruppe der Saccharomycetinen zu den entwickelungsgeschichtlich höher stehenden *Endomyces*-Formen ansehen.

v. Wettstein erwähnt in seinem Handbuch der systematischen Botanik, daß mit den Saccharomycetinen vielfach einige Familien von niederen Ascomyceten, wie die Endomycetaceen in nahe Beziehung gebracht werden können, welche gleichfalls sehr einfach gebaute Ascomyceten darstellen, die aber ein typisches Mycel besitzen. Diese Formen, wie *Endomyces* und *Exemascus*, deren Zusammengehörigkeit zu einer Familie sehr fraglich ist, stellen dann weiter einen Uebergang zu den Plectascineen, also zu den eigentlichen Schimmelpilzen, wie z. B. zu den Aspergillaceen, her. Das erste Vorkommen von Hefen, welche hutförmige Sporen bilden, wurde durch H. Will¹⁾ schon vor dem Jahre 1891 beobachtet. Er fand sie zuerst bei der Untersuchung des Belages eines Gummischlauches, später aber auch frei in verschiedenen Bierproben europäischer und amerikanischer Provenienz. Aber erst E. Christian Hansen²⁾ war es, welcher im Jahre 1891 eine hutförmige, Sporen bildende Hefe beschrieb und diese Hefe *Saccharomyces anomalus* benannte. Er erscheint demnach als Begründer der *Anomalus*-Gruppe. In seinen Grundlinien zur Systematik der Saccharomyceten³⁾ hat Chr. Hansen die *Anomalus*-Hefen in die 6. Gattung der Saccharomyceten vereinigt und sie unter dem Namen *Willia* (E. Chr. Hansen) beschrieben. Nach seiner Auffassung bilden die unter diesem Namen zusammengezogenen Hefen mit der Gattung *Pichia* (E. Chr. Hansen) die 2. Gruppe der echten Saccharomyceten. Hansen rechnet zur Gattung *Willia* folgende Arten:

Willia anomala mit hutförmigen Sporen und *Willia saturnus* mit zitronenförmigen Sporen. Außerdem gliedert er die von Steuber gefundenen und beschriebenen Hefen an. Später als Hansen fand

1) Zeitschrift für das gesamte Brauwesen. 1892. p. 75.

2) Compt. rend. laboratoire Carlsberg. 1891.

3) Centralblatt für Bakteriologie. Abt. II. Bd. XII. p. 529.

P. Lindner¹⁾ auf Grünmalz einen Sproßpilz, den er infolge Bildung von hutförmigen Sporen gleichfalls *Saccharomyces anomalus* nannte. Er machte die Beobachtung, daß es sehr häufig zur Bildung und Vermehrung dieser Hefe kommt, wenn man irgend eine quellreife Gerste in eine Glasröhre lose einfüllt und diese beiderseits so verschließt, daß noch Luft aus- und eintreten kann. Den bevorzugtesten Ansiedlungsort am Korn selbst bildet die Stelle, wo die Wurzelscheide und die Würzelchen hervorbrechen. Auch machte Lindner aufmerksam, daß hierbei sehr häufig eine eigentümliche Violettfröbung der Würzelkeime auftritt.

Während diese Hefe Hexosen, Saccharose und Maltose vergärt und Fruchttäthergeruch erzeugt, existiert noch eine zweite Art, welche Lindner²⁾ im belgischen Biere fand. Diese, von Lindner *Saccharomyces anomalus* var. *belgicus* (*Willia belgica*) genannt, vergärt Hexosen nur in sehr geringen Spuren und erzeugt keinen Fruchttäther. Weiter spricht Chrzaszcz³⁾ von einer *anomalus* artigen Hefe, welche er zwischen den Spelzen von Gerstenkörnern gefunden hatte.

Jörgensen⁴⁾ erwähnt eine im Jahre 1893 gefundene *Anomalus*-Varietät, welche im englischen untergärigen Bier Trübungen hervorgerufen hatte, also sogar als Krankheitshefe aufgetreten war. Dieselbe erwies sich in diesem Nährmedium so lebenskräftig, daß sie alle übrigen Hefen überwucherte. Harrison⁵⁾ fand in einer kanadischen Käsefabrik, daß die Milch beim Erwärmen und Laben ein „bitteres Aroma“, bisweilen einen fruchtartig aromatischen Geruch bemerken ließ. Er erkannte als Erreger eine *Torula*, aber auch eine *Anomalus*-Hefe. Saito⁶⁾ beobachtete auf Proben von Saké aus verschiedenen Orten Japans neben bakteriellen Trübungen auch die Entstehung einer weißgrauen feinfaltigen Kahlhaut, aus welcher er eine Hefe isolieren konnte, welche hutförmige Sporen bildete. Kozai⁷⁾ fand in Koji eine *Anomalus*-Hefe, welche mit der von Lindner aus Grünmalz gezüchteten große Ähnlichkeit aufwies. An der wissenschaftlichen Station in München wurden ferner im Laufe der Jahre speziell von Will, dem wir die meisten Arbeiten über *Anomalus*-Hefen verdanken und dem zu Ehren Hansen auch seiner Gattung *Willia* den Namen gab, noch andere Vorkommnisse der hierher gehörenden Hefen entdeckt. So fand Will⁸⁾ sowohl bei Untersuchungen von Kühlschiffwürzen als auch von Jungbieren und schankreifen Bieren, hellen wie dunklen, aus Bayern, Baden, Holland und Belgien Hefen vom *Anomalus*-Typus. Ferner beobachtete er das Vorkommen dieser Hefen sowohl in Rübenzuckerproben als auch in raffiniertem Rohrzucker aus Brasilien, welcher dort als Surrogat zur Bierbereitung benutzt wird. Fischer und Brebeck⁹⁾ haben im Jahre 1894 eine Reihe von Kahmpilzen einem vergleichenden Studium unterworfen. Unter anderem beschäftigten sie sich auch mit einem starke Decken bildenden Pilz, welcher typische endogene Sporen von Hutform bildete. Leider vereinigten sie diesen mit anderen Kahmpilzen, welche, wie später von anderer Seite nachgewiesen wurde, keine Ascosporen zur Entwicklung bringen, in

1) Wochenschrift für Brauerei. 1892. No. 4. p. 75.

2) Lindner, Mikrosk. Betriebskontrolle. 2. Aufl. 1898.

3) Wochenschrift für Brauerei. 1902. p. 590.

4) Mikroorganismen. 4. Aufl. p. 238.

5) Centralblatt für Bakteriologie. Abt. II. Bd. IX. p. 206.

6) Journal of the college of science. Imperial University Tokyo. 1904.

7) Centralblatt für Bakteriologie. Abt. II. Bd. VI. p. 385.

8) Centralblatt für Bakteriologie. Abt. II. Bd. VI. p. 219.

9) Jena (Fischer) 1894.

die Gattung *Endoblastoderma*. Die sporenbildende Art nannten sie *Endoblastoderma pulverulentum*. Aus der Beschreibung geht jedoch hervor, daß diese Art nahezu identisch mit der von Hansen beschriebenen *Anomalous*-Hefe ist. Sie bildet ganz gleiche Zellformen und hutförmige Sporen von gleicher Gestalt und Größe und unterscheidet sich nur sehr wenig von dieser durch Bildung einer rein weißen Haut. Wie die *Anomalous*-Hefe entwickelt auch *Endoblastoderma pulverulentum* einen kräftigen Geruch nach Fruchtäther. A. Klöcker¹⁾ hat die von Fischer und Brebeck aufgestellte Behauptung, daß auch die übrigen unter dem Namen *Endoblastoderma* vereinigten Pilze Sporen ausbilden, nachgeprüft und gefunden, daß diese Gebilde, welche Fischer und Brebeck für Sporen hielten, keine Sporen waren, sondern durch einen Beobachtungsfehler als solche gedeutet wurden. Weiter hat L. Steuber²⁾, ein Schüler Wills, im Jahre 1900 drei sehr charakteristische *Anomalous*-Hefen, sowie eine von H. Will früher aus gestoßenen Kirschen, welche in Selbstgärung übergegangen waren, erhaltene Varietät einer eingehenden Untersuchung unterworfen.

K. von Kujawski³⁾ fand in einem Pflaumenmus eine *Anomalous*-Hefe, die aber nicht weiter beschrieben wurde. R. Meissner⁴⁾ hat 35 verschiedene Rassen von Kahlhefen und kahmhautbildenden *Saccharomyceten*, darunter auch *Saccharomyces anomalous*, zu seinen Untersuchungen über Morphologie und Physiologie dieser Pilze herangezogen. Er konnte nach ihrem Wachstum in Riesenkolonien vier verschiedene Typen unterscheiden. Beim dritten Typus, in welchen er die *Anomalous*-Hefe einreicht, sind die Riesenkolonien kompakter Natur und zeigen auf der Oberfläche sehr charakteristische Zeichnungen. In physiologischer Beziehung erkannte er, daß die *Anomalous*-Hefe anfänglich säurebildend, dann aber säurezehrend wirkt. Ganz alte Kulturen von *Saccharomyces anomalous* machten das Nährsubstrat sogar alkalisch, eine Beobachtung, auf welche schon Will⁵⁾ und noch früher Raymann und Kruis⁶⁾ aufmerksam machten. Lindner führt ferner in der neuesten Auflage seines Werkes „Mikroskopische Betriebskontrolle“ noch eine *Anomalous*-Hefe an, die von Zeidler aus Eibischsaft isoliert, ferner eine solche, die im armenischen Mazun unter anderen Sproßpilzen (und auch Spaltpilzen) gefunden wurde.

Von anderen Arbeiten, welche sich mit *Anomalous*-Hefen, und zwar nur als Ueberprüfungsmaterial beschäftigen, wären noch folgende zu erwähnen:

J. Chr. Nielsen⁷⁾ gibt in einer Arbeit unter dem Titel „Sur le développement des spores du *Saccharomyces membranaefaciens*, du *Saccharomyces Ludwigii* et du *Saccharomyces anomalous*“ den Zusammenhang zwischen der Temperatur und der Zeitdauer der Sporenbildung bei diesen drei Hefen an. E. Chr. Hansen⁸⁾ untersuchte die Lebensdauer verschiedener Hefen in Asche und Sand, sowie eingetrocknet auf Filterpapier und Platindrähten. Auf letzteren fand er die *Anomalous*-

1) *Compte rendu Laborat. Carlsberg*. 1895.

2) *Ztschr. für das gesamte Brauwesen*. 1900. p. 3, 17, 33.

3) *Ztschr. für das gesamte Brauwesen*. Bd. XXIII. p. 111.

4) *Landwirtschaftliche Jahrbücher*. 1901.

5) *Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VI.* 1900.

6) *Mitteilungen der Versuchsstation für Spiritusindustrie*. Prag 1891.

7) *Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. I.* p. 187, 447.

8) *Compte rendu des travaux d. laborat. de Carlsberg*. T. IV. Livr. 3.

Hefe 80 Tage lebensfähig. Sie zählt demnach zu den gegen Trocknung widerstandsfähigsten Saccharomyceten. P. Hoyer¹⁾ bestimmte die Generationsdauer einer Anomalus-Hefe, welche jahrelang an der österreichischen Versuchsstation für Brauindustrie in Wien gezüchtet worden war, bei 13° mit 5^h 13'.

H. Will²⁾ fand, daß *Saccharomyces anomalus* zu den am schnellsten Gelatine verflüssigenden Hefenarten gehört, gleichgültig ob Gelatine aus Süßwürze oder aus gehopfter Würze bereitet, als Nahrung geboten wurde. Ferner überprüfte er unter vielen anderen Hefearten auch eine Anomalus-Hefe auf Gerbstoffgehalt, wobei er während verschiedener Wachstumsstadien — erste sichtbare Gärungserscheinungen, Höhepunkt der Gärungserscheinungen, Reifestadium, die Gerbstoffreaktion vornahm. Er konnte konstatieren, daß die in frisch geimpften Würzekulturen neu gebildeten lebenden Hefezellen in keinem Stadium im Zellinhalt eine Gerbstoffreaktion zeigen. Dagegen trat dieselbe an toten Zellen ein. Je plasmaärmer und je reicher an Öltröpfchen die Zellen waren, desto weniger reagierte der Zellinhalt auf die angewendeten Prüfungsmittel. Wesenberg³⁾ überprüfte Antigermin, Mikrosol, Afral, Mycelid und Antiformin in ihrer Wirkung auf einige Hefen, darunter auch auf die Anomalus-Hefe, wobei er Antigermin für diese Gattung am meisten wachstumshemmend fand. Auch die Kernfrage wurde von A. Guillermond⁴⁾ in seinem Werke „Recherches cytologiques sur les levures et quelques moisissures à formes levures“ bei *Saccharomyces anomalus* studiert und ein Kern angeblich gefunden. B. T. P. Barker studierte die Sporenbildung an verschiedenen Hefen in der Weise, daß er die Gipsblockkulturen teils in mehr oder weniger verdünnte Würze, teils in destilliertes Wasser einstellte. Es zeigte sich, daß durch die Anomalus-Hefe zum Unterschied von vielen anderen Hefen, darunter auch *Saccharomyces cerevisiae* desto mehr Sporen gebildet wurden, je stärker die Würze verdünnt war, daß jedoch in reinem Wasser keine Sporulation stattfand. Letzteres ist jedoch nicht richtig, wie Klöcker⁵⁾ nachwies, der den *Saccharomyces anomalus* zahlreiche Sporen auf gewöhnlichen Gipsblockkulturen bilden sah, wenn der Gipsblock in reines Wasser gestellt wurde.

Hansen⁶⁾ überprüfte in einer neuerlichen Arbeit den Einfluß von Luft und Temperatur auf das Wachstum der Hefen und fand bei *Saccharomyces anomalus*, daß diese Hefeart bei den Grenztemperaturen, also bei dem Temperaturminimum und -maximum nur als Bodensatzhefe und nicht in Hautform wächst. Will⁷⁾ studierte den Einfluß von Furfurol auf Hefen, darunter auch auf eine Anomalus-Hefe. Er fand sie gegen diesen Aldehyd der Brenzschleimsäure als eine der widerstandsfähigsten. F. W. Tullo⁸⁾ untersuchte den Einfluß verschiedener Zuckerlösungen auf die Tötungstemperatur verschiedener Hefen, wobei er die Anomalus-Hefe als sehr wenig widerstandsfähig speziell bei höheren Temperaturen erkannte.

- 1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. V. p. 704.
- 2) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VII. p. 796.
- 3) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. p. 627.
- 4) Lyon et Paris 1902. p. 289.
- 5) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. p. 470.
- 6) Comptes rendus trav. Laborat. Carlsberg. T. V. 2 Livr.
- 7) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. p. 591.
- 8) Wochenschr. f. Brauerei. 1905. p. 45.

Hansen¹⁾ hat in jüngster Zeit eine Reihe neuer Untersuchungen darüber angestellt, ob sich Hefezellen auch in der Erde vorfinden, welche durch Wind und Luftbewegung in hohle Bäume, auf Mauerwerk, Felsen etc. gebracht wurden und fand eine deutliche Uebereinstimmung der in diesem Humus angesiedelten Sproßpilze mit dem am Nachbarboden vegetierenden. Für *Willia anomala* und *Pichia membranaefaciens* konnte er nachweisen, daß diese Hefen in dem Humus auf Baumrinde eine viel länger andauernde Trockenheit ertragen können als die anderen *Saccharomyceten*. Beide Arten besitzen auch eine stärkere Vermehrungsfähigkeit als die übrigen Pilze. Dies erklärt die Tatsache, daß sie zu jenen Hefearten gehören, welche in weiter Entfernung von Obst- und Weingärten auftreten und in Perioden anhaltender Dürre noch aushalten, bei welchen die meisten anderen Hefen unterliegen.

Von allen besprochenen Hefen in ihrer Sporenform wesentlich verschieden ist die *Saturnus*-Hefe, *Saccharomyces saturnus*, welche von A. Klöcker²⁾ beschrieben und von Hansen in die Gattung *Willia* eingereiht wurde. Die citronenförmige Spore bei der *Saturnus*-Hefe stellt eine flachgedrückte Vollkugel dar, welche meridional von einer Leiste umgürtet ist. Zur Bildung von halbkugeligen, hutförmigen Sporen kommt es bei dieser Hefe nie; sie zeigt jedoch mit den *Anomalus*-Hefen insoweit eine große Aehnlichkeit, als sie wie diese gleich am Anfang der Gärung eine graue oder weißliche Haut an der Oberfläche der Nährflüssigkeit bildet und einen starken Geruch nach Fruchtäther entwickelt. Andere den *Anomalus*-Hefen nahestehende Formen sind nicht bekannt. Bei genauerem Studium der angeführten Literatur ersieht man, daß sich nur der kleinste Teil der Arbeiten mit einer ausführlicheren Beschreibung der gefundenen Hefe abgibt. In den meisten begnügen sich die Verf. mit dem Hinweis, daß die entdeckte Hefe hutförmige Sporen bildet. Auf das Wachstum derselben in und auf den im Laboratorium benutzten üblichen Nährböden wird nur in ganz wenigen Arbeiten Rücksicht genommen, ganz abgesehen von der Eruiierung ihrer physiologischen Eigenschaften und ihrer chemischen Leistungen. Es ist demnach unmöglich, sich ein nur halbwegs genaues Bild von den meisten der entdeckten Hefen zu verschaffen, doch dürfte die Annahme richtig sein, daß die meisten der gefundenen Pilze untereinander außerordentlich ähnlich, viele sogar identisch sind. Ich will nun in folgendem versuchen unter Zuhilfenahme der, wie gesagt, sehr spärlichen Angaben der Literatur die wichtigsten der unterschiedlichen Eigenschaften der gefundenen *Willia*-Arten zu besprechen. Genauere Daten hierzu enthalten eigentlich nur die Arbeiten von Hansen, Will-Steuber und Klöcker (siehe Tabellen).

In Bezug auf Zellform und Größe sind die *Anomalus*-Hefen einander ziemlich ähnlich. Jede einzelne zeichnet sich durch den größten Polymorphismus aus. Hansen führt als Zellformen die ovale, die runde, die *Torula*-ähnliche und die wurstförmige an; Steuber findet Unterschiede der Zellen im zentralen Teile der Riesenkolonien, wo sich $15\ \mu$ lange Zellen und im peripheren Teile, wo sich *Mycoderma*-ähnliche Zellen vorfinden. Will beobachtete, daß die Bodensatzformen oft *Torula*-artig, die Hautformen langgestreckt, schlauchförmig oft bis

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1905. p. 545.

2) Comptes rendus des travaux de Laborat. de Carlsberg. 1902.

30 μ lang werden können. Die Hautbildung setzt bei allen *Anomalous*-Hefen sehr frühzeitig ein, doch ergeben sich in Beziehung auf Farbveränderungen der Haut schon faßbare Unterschiede. *Hansens Anomalous*-Hefe bildet eine graue Haut, welche sich farblich nicht verändert, *Steubers* erste, dritte und vierte Varietät entwickeln eine Haut, welche zuerst kreideweiß, später gelblich wird, die zweite Varietät eine Haut, die anfangs eine weiße, dann eine rosa bis braunrote Farbe annimmt. Das Optimum der Hautbildung liegt bei den drei ersten *Steuberschen* Hefen bei 30°, bei der vierten bei 25°. Schon knapp unter 10° ist bei sämtlichen *Anomalous*-Hefen die Hautbildung eine äußerst schwache. Die Sporenbildung geht bei der *Hansenschen* Hefe, wie *Nielsen* berichtet, am besten bei der Temperatur von 30° vor sich, und zwar treten bei 30° bereits nach 17–19^h Askosporen auf. Bei 32° entwickeln sich die ersten Anlagen nach 19–21^h, bei 6–7° nach 13 bis 14 Tagen, unter 3° findet keine Sporenbildung statt. Diese Hefe bildet nicht allein auf dem Gipsblock, sondern auch in der Haut, wie in den Bodensatzformen leicht Sporen. In den vegetativen Zellen kommen 2 bis 4 Sporen in der Regel zur Entwicklung. Die Größe dieser Sporen ist sehr konstant, so beträgt die Breite der Basis, und zwar an dem Ansatz der Leiste gemessen, stets 2–3 μ . Von den *Steuberschen* Varietäten bilden I und II am leichtesten Sporen; I bildet die ersten Anlagen bei 25° C schon nach 13–14^h, II nach 20^h. Bei II ist sowohl auf dem Gipsblock wie in der Haut und in den Riesenkolonieen die Sporenbildung immer eine sehr reichliche, bei I ist sie nur auf dem Gipsblock sehr reichlich, in der Kahnhaut und in Riesenkolonieen dagegen spärlich. Varietät III und IV bilden auf dem Gipsblock nur vereinzelt Sporen; in den Häuten waren selbst nach 4 Wochen keine Sporen zu sehen; in den Riesenkolonieen dagegen war bei III und IV die Sporenbildung reichlich. Bei IV wurde im Laufe der Weiterzüchtung eine stete Abnahme der Sporenbildung beobachtet, ein Fall, welchen auch *Lindner* und *Zeidler* bei den von ihnen entdeckten *Anomalous*-Hefen konstatieren konnten. Sämtliche besprochenen Hefen bilden Sporen von gleicher Größe und Form, unterscheiden sich aber nach dem Mitgeteilten eingermaßen in der Sporenentwicklung.

Die Riesenkolonieen auf Gelatine, speziell auf Würzgelatine, sind bei sämtlichen bekannten *Anomalous*-Hefen durch einen festen, trockenen, oft wie mehlig bestäubt erscheinenden Belag charakterisiert, welcher oft sehr typische, zumeist radial verlaufende Zeichnungen erkennen läßt. Die *Hansensche*, sowie die Varietäten I, III und IV von *Steuber* liefern nur dünne, sich eng an das Nährmedium anschmiegende Beläge, Varietät II aber einen in die Dicke kräftig wachsenden Belag. Ein durchgreifendes Merkmal dieser aus Kirschen gewonnenen Varietät ist auch die braune Farbe der Riesenkolonieen gegenüber der weißen, später gelblichen Färbung der anderen Varietäten. Ueber die *Hansensche Anomalous*-Hefe liegen in dieser Richtung, soweit ich mich aus der Literatur unterrichten konnte, keine näheren Beobachtungen vor.

Was die chemische Leistung anlangt, so ist die Abscheidung tryptischer Enzyme ziemlich reichlich; so berichtet *Steuber*, daß im Stichpräparat seine Varietät I Würzgelatine innerhalb 4 Wochen, die übrigen Varietäten innerhalb 2–3 Monaten vollständig verflüssigen. Die *Hansensche* Hefe entwickelt nach den Mitteilungen *Nielsens* nach 11 Tagen 0,9 Vol.-Proz. Essigsäureäthylester. Daneben findet sich nach Angaben *Seifferts* noch Essigsäure. Nach *Nielsen* ruft sie in Maltoselösungen

keine Gärung hervor und sondert in Saccharoselösungen kaum Invertase ab. Lindners *Saccharomyces anomalus* var. *belgicus* vergärt weder Maltose noch Dextrose und Saccharose und bildet zum Unterschiede von der Hansenschen Hefe keinen Fruchttäther. Von den Steuberschen Hefen entwickelt nur Stamm I Fruchttäther, die übrigen nicht. Die erste Varietät vergärt 10 Proz. Dextrose, Lävulose und Saccharose, nicht aber Galaktose, Maltose, Laktose, vermag aber in deren Lösungen zu vegetieren. Die zweite Varietät vergärt sehr langsam 10-proz. Saccharose, ebenso Lävulose, aber unvollständig, nicht aber Dextrose, Galaktose, Laktose und Maltose, die III. und IV. vergärt nur in geringen Mengen Lävulose, nicht aber Dextrose, Galaktose, Saccharose, Maltose und Laktose. Die beiden letzteren verleihen der Laktoselösung einen geringen Grad von Alkaleszenz. So ergeben sich auch bei den chemischen Leistungen Unterschiede, die schon zu einer deutlicheren Unterscheidung der verglichenen Hefen führen. Wenn man nun die vorstehenden Mitteilungen kurz zusammenfaßt, so zeichnet sich die *Anomalus*-Hefe durch eine große Veränderlichkeit in Form und Größe aus, welche zumeist durch äußere Ursachen hervorgerufen wird. Die *Anomalus*-Hefe ist eine kleinzellige Hefe, welche leicht und rasch Häute bildet. Die Sporen weisen ausschließlich die typische Hutform auf und werden im allgemeinen leicht sowohl auf Gipsblöcken, wie auf Gelatine (Würzegelatine) und in den Kahmhäuten gebildet. Die Abscheidung von proteolytischen Enzymen ist verhältnismäßig groß, die Zuckerzersetzung gering, indem in den meisten Fällen nur Monosaccharide der Spaltung und Zerlegung unterliegen. Die Riesenkolonien schließlich sind in den weitaus meisten Fällen flach und dem Nährsubstrate dicht anliegend, stets aber fest und trocken.

Letztere bisher als typisch für *Anomalus*-Hefen zu betrachtende Eigenschaft hat mich, wie ich in der Folge ausführen werde, bewogen, eine neue Art aufzustellen, da die von mir gefundene, dem *Anomalus*-Typus angehörende Hefe hoch erhabene schleimige Beläge auf sehr verschiedenen Nährsubstraten bildet.

Diese neue *Anomalus*-Hefe wurde bei einer Bodenanalyse gefunden, deren Material aus der Nähe Liesings, einer nahe bei Wien gelegenen Stadt, stammte. Auf den Würzeplatten, welche unter anderem zur Isolierung der einzelnen Keime angestellt wurden, kamen eigentümlich schleimige, tropfenförmige Kolonien zur Entwicklung, welche einigermaßen an die Kolonien gewisser Würzebakterien erinnerten, sich aber bei einer folgenden mikroskopischen Untersuchung als aus kleinzelligen Hefeorganismen bestehend erwiesen. Diese Kolonien hatten mit den gleichen Anlagen keiner bereits bekannten Hefe irgend eine Aehnlichkeit und erschien es daher wünschenswert, genauer mich mit dieser Hefe zu beschäftigen. Vor allem ergab sich die Notwendigkeit, eine einwandfreie Reinzucht derselben herzustellen. Es wurden zu diesem Zwecke einzelne Kolonien in Würze gebracht und die sich entwickelnde Hefe einige Male umgeimpft. Bei der Reinzucht, welche nach dem von Wichmann und mir¹⁾ angegebenen Verfahren durchgeführt worden war, wurde nur von solchen Zellen ausgegangen, die sich besonders durch eine große Vermehrungsfähigkeit auszeichneten. Diese wurden in bekannter Weise weitergezüchtet und unter den verschiedensten Modalitäten, mit deren Schilderung sich die folgenden Zeilen beschäftigen, studiert.

1) Mitteilungen der österr. Versuchsstation für Brauindustrie 1905.

Vorausschicken will ich noch, daß sich die neue Hefe mit Ausschluß ihrer schleimigen Konsistenz im großen und ganzen ähnlich verhält wie die bereits bekannten *Anomalus*-Hefen. So zeichnet sie sich durch einen hohen Grad von Polymorphismus aus; ich fand die Bodensatzformen in Würze 3—5 μ lang, 3 μ breit, die Hautzellen aber 6 bis 40 μ , einzelne auch darüber lang. Diese Hautzellen sind zumeist gerade, zuweilen zeigen sie eine gebogene Form. Auf Würzeagar, sowie in Würze gezüchtet ergab sich als Temperaturmaximum für das Wachstum 32°, als Temperaturoptimum 22°, als Temperaturminimum 5°. Unter 5° konnte auch nicht mit Zuhilfenahme des Mikroskops in den für diesen Zweck angelegten Tröpfchenkulturen eine Vermehrung beobachtet werden. Die einzelnen Bodensatzzellen haben häufig eine kurz elliptische, seltener eine kugelige Form; Vacuolenbildung ist häufig zu bemerken. In den meisten Fällen entwickelt sich nur eine Vacuole, welche ungefähr die Hälfte des Zellumens einnimmt, in vereinzelt Fällen finden sich auch zwei Vacuolen vor. Stark lichtbrechende, durch Methylgrün oder Alcannatinktur färbbare Körperchen (Granula) kommen fast nur in der Einzahl, sehr selten in der Zweizahl vor.

Die Sporen sind ausgesprochen hutförmig. Die Höhe derselben beträgt 2 μ , ebenso auch der Durchmesser der Grundfläche, die Leiste nicht mitgerechnet. Diese dürfte schätzungsweise eine Breite von nicht ganz 1 μ besitzen. In einem Ascus sind zumeist 2, zuweilen auch 3 bis 4 Sporen vorhanden. Gewöhnlich bilden die Leisten zweier Sporen einen stumpfen oder spitzen Winkel, hier und da liegen sie aber platt nebeneinander, so daß sich die beiden Leisten decken. Man hat dann ein ähnliches Bild, wie es die Sporen der *Saturnus*-Hefe darbieten. Diese Sporen erwiesen sich ähnlich widerstandsfähig gegenüber Farbstofflösungen wie die der wilden Hefen, z. B. *Saccharomyces pastorianus*. Die Auskeimung der Sporen, welche ich genauestens verfolgte, fand zumeist kurz oberhalb der Leiste in Form einer direkten Knospung statt. Durch verschiedene Sporenfärbungsmethoden wurde konstatiert, daß an der Leistenbildung sowohl das Exosporium wie das Endosporium beteiligt sind, indem bei sehr subtiler Auswahl der einzelnen Farbstofflösungen und ihrer Gewichtsmengen sowie der Zeit ihrer Einwirkung folgende Beobachtungen gemacht werden konnten: Bei sehr starken Vergrößerungen (über 1500 linear) gelang es häufig zu sehen, daß das Lumen der Zelle, ebenso aber auch eine dünne äußere Randzone der Haut (Exosporium) gefärbt waren, während eine dickere innere Randzone (Endosporium) keine Färbung annahm, sondern farblos blieb. Diese ungefärbte Zone setzte sich auch in die Leiste fort und nahm das Innere der Leiste aber doppelt so breit als an der Halbkugel ein. Es dürfte daher diese Leistenbildung in der Weise zu stande kommen, daß sich die ursprüngliche Sporenkugel unter dem Einfluß des in der Mutterzelle oder in dem Ascus herrschenden Turgordruckes an der zartesten Stelle abplattet und die immerhin sehr dehnsamen Sporenhäute leistenförmig herausgedrückt werden, etwa so, wie sich bei leicht knetbaren Substanzen in Kugelform nach einem Drucke gegen eine plane feste Unterlage die äußersten Teilchen an der gedrückten Basis über die Kugelfläche hinausdrücken lassen.

Auf Gipsblöcken war die Sporenbildung bei 28° schwach, bei 25° kräftig, bei 21° sehr kräftig, bei 18° schon schwächer und hörte bei 10° gänzlich auf. Auf gelber Rübe erhielt ich fast die gleichen Resultate, und sei hier bemerkt, daß die Sporulation auf diesem Nährboden

weit kräftiger einsetzte als auf Kartoffel, eine Beobachtung, auf welche schon Reess bei anderen Hefen aufmerksam machte.

Außer auf Gipsblöcken, Kartoffel und gelber Rübe fand ich diese Hefe auch Sporen bildend in den Hautzellen auf Würze und Bier, sowie in den Zellen von Riesenkolonien, die ich auf verschiedenen Nährböden anlegte.

Die Kulturen dieser Hefe auf einigen festen Nährsubstraten sind, wie schon erwähnt, schleimig. Dieses eigentümliche Wachstum glaube ich durch eine starke Verquellung der Membran erklären zu können. Es haben nämlich Färbungsversuche mit Essigsäure und Anilin-Gentiana-violettlösung erwiesen, daß die äußere Membran der Zellen sehr stark verquollen ist. Ich fand diese Schleimhülle bis zu $3\ \mu$ breit, während dieselbe bei anderen Hefen, darunter auch bei *Willia anomala* nur eine Dicke von höchstens $0,5\ \mu$ erreicht. Die schleimige Konsistenz des Belages tritt besonders deutlich auf gelber Rübe, Würzegeatine, Würzeagar, dann auf Kartoffel, Saccharoseagar, Kartoffelwassergeatine auf.

Auf Peptongelatine entwickelt sich ein glatter, nach der Mitte zu eingesenkter, wenig schleimiger Belag, welcher auch nach 8 Wochen seine weiße Farbe nicht ändert; Sporenbildung ist hier häufig. Auf Würzegeatine kommt es zur Bildung eines schleimigen, leicht fließenden, halbkugelig entwickelten Belages.

Wird hierbei die Petri-Schale, welche die Kolonien enthält, senkrecht gestellt, so fließen die letzteren nach einiger Zeit ab und sammeln sich im untersten Teile der Schale in Form einer einzigen schleimigen Masse an. Aus dieser können durch Eintauchen eines Platindrähtchens nach dem Abziehen lange Fäden gezogen werden. Die Riesenkolonien auf diesem Nährboden verändern allmählich ihre Farbe von weiß nach gelb, wobei die tiefere Farbennüancierung vom Mittelpunkt der Kultur ihren Ausgang nimmt. Zur Sporenbildung kommt es auf diesem Nährboden ziemlich häufig.

Die Kolonien auf Glukoseagar stellen gelblich-weiße Tröpfchen von zähschleimiger Konsistenz dar. Sie erscheinen halbkugelförmig über das Nährsubstrat gewölbt. Auf diesem Nährboden werden keine Sporen gebildet.

Weniger zähschleimig sind die Kolonien auf Saccharoseagar und ist es auch auf diesem Nährboden durch Senkrechtstellen der Petri-Schale möglich, fast sämtliche Kolonien zum Abrinnen zu bringen.

Aehnlich verhalten sich die Kolonien, welche auf Kartoffelwassergeatine zur Entwicklung kommen.

Auf Kartoffel bildet sich ein schleimiger grau-weißer Belag längs des Striches. Zu Anfang entstehen längs dieses halbkugelige Ansätze, welche später zerfließen und sich vereinigen. Sporen kommen häufig zur Entwicklung.

Auf gelber Rübe entstehen grauweiße, schleimige, zerfließende Beläge unter reichlicher Bildung von Sporen.

Die Entwicklung der Hefe in einigen überprüften Nährlösungen ging fast stets unter Bildung einer kräftigen Haut vor sich.

Gehopfte Würze wird zwei Tage nach Aussaat der Hefe trübe, nach drei Tagen tritt Beginn der Hautbildung ein, welche nach weiteren 24^h schon eine beträchtliche Stärke erreicht. Sporenbildung in den Hautzellen wird häufig beobachtet.

Die Vermehrung der Hefe in Würze und zwar im hängenden Tropfen beobachtet, geht in der Weise vor sich, daß kurze Zellverbände

von drei bis vier Zellen gebildet werden, welche dann zu vielen vereinigt nebeneinander liegen.

In Süßwürze kommt es gleichfalls zur Entwicklung einer Haut, jedoch ist dieselbe zarter als in gehopfter Würze. Nach nicht langer Zeit bildet sich ein Hefenring, der successive stärker wird und zahlreiche Asci enthält.

In sterilem Lagerbier (Wiener Type) ist eine schwache Vermehrung der Zellen konstatierbar; auch hier ist die Entwicklung eines Heferinges auffallend, in welchem zahlreiche Zellen Sporen bilden.

In der Regel finden sich hier die Sporen in der Weise angelagert, daß je zwei derselben mit den Leisten aneinander liegen, mehr als zwei Sporen in einem Ascus sind außerordentlich selten.

In Heudekokt ist das Vegetationsbild durch schwache Ring-, dünne Hautbildung, schwache Trübung skizziert. Die Hautzellen sind in einer nicht färbbaren Schleimhülle eingebettet; Ascosporenbildung konnte in dieser Nährflüssigkeit nicht beobachtet werden.

Die Kultur in Hefewasser läßt die Bildung einer dünnen Haut unter dauerndem Klarbleiben des Nährmediums erkennen. Sowohl in den Haut- wie in den Bodensatzzellen finden sich ziemlich häufig Ascosporen vor.

In Kartoffelwasser kommt es zur Bildung eines Heferinges, sowie einer kräftigen Haut, welche aus sehr langgestreckten Zellen, 10 bis 20 μ lang, gebildet wird. Auch die Bodensatzzellen sind in dieser Flüssigkeit gegenüber anderen Nährsubstraten auffallend langgestreckt (6–8 μ lang bei einer Breite von 2 μ).

Wie aus dem Mitgeteilten ersichtlich, bildet die Hefe fast auf allen untersuchten Nährsubstraten Häute, jedoch ist die Hautbildung bei dieser Hefe im Vergleiche zu einer typischen *Anomalous*-Hefe sehr verzögert. Sie tritt zirka 24^h später auf.

Eine interessante Beobachtung konnte bei der Hautbildung auf Würze im Pasteur-Kolben gemacht werden.

Es zeigte sich nämlich, daß die Intensität der Hautbildung sehr von dem Verschlusse des Kulturgefäßes abhängig ist. War dieses besser nach aussen abgeschlossen, war also das dünne Ansatzrohr des Pasteurkolbens, welches zum Luftaustausch dient, mit Asbest dicht verschlossen, so trat eine stärkere Hautbildung auf als im anderen Falle, bei welchem dieses Rohr unverschlossen und frei war. Ich ging dieser Erscheinung weiter nach und legte Kulturen in Erlénmayer-Kolben an, die teils ganz offen und nur mit einem Becherglase lose bedeckt waren, teils aber völlig hermetisch durch einen Korkstöpsel verschlossen wurden. Auch hier zeigte sich, und zwar sehr auffallend, daß die Hautbildung in den verschlossenen Gefäßen viel früher einsetzte und ungleich kräftiger ausfiel als in den nur lose bedeckten Kolben. Diese Beobachtung widerspricht der allgemeinen Annahme über die Ursache der Bildungsweise der Kähmhäute; sie kann vielleicht in der Weise erklärt werden, daß diese Hefe zur Bildung ihrer Haut nicht des vollen Sauerstoffgehaltes der Luft bedarf, ja in dem Vollgenuß der atmosphärischen Luft eine geringere Vermehrung der Hautzellen zeigt als in einem gasförmigen Medium, welches nur einen Teilbetrag des Sauerstoffes der Atmosphäre enthält, in welchem also andere Gase, wie z. B. Kohlensäure oder auch Dämpfe, wie Essigsäureäther, Alkohol etc. vorhanden sind.

Einen breiten Raum in der weiteren Untersuchung nahm das Studium der Assimilationsvorgänge dieser Hefe gegenüber verschiedenen

Zuckerarten ein. Es kamen zur Ueberprüfung Glukose, Galactose, Mannose, Fruktose, Saccharose, Maltose, Laktose, Melitriose, Raffinose, Dextrin und Inulin. Zur Darstellung der Nährlösungen diente Hefewasser (100 g Hefe auf 1000 ccm Wasser), welches mit der gleichen Menge Aqua fontis verdünnt wurde. Von Glukose, Fruktose, Galactose, Saccharose, Maltose, Lactose und Raffinose wurden 10-proz., von Mannose, dem Handelsdextrin Marke Merck und Inulin 5-proz. Lösungen (von Inulin übersättigte) angefertigt. Von diesen Nährflüssigkeiten wurden peinlichst genau je 200 ccm in zwei Erlenmayer-Kölbchen gebracht und daselbst sterilisiert. Der Inhalt des einen Kölbchens diente als Vergleichsprobe, der des zweiten Kölbchens aber wurde mit möglichst kräftigen Zellen der Hefe beimpft. Zu diesem Zwecke wurde die Hefe zweimal in gehopfter Würze regeneriert, dann in sterilen Schleudereprouvetten sedimentiert und von dem Bodenbelag unter Berücksichtigung aller Kautelen einer einwandfreien sterilen Entnahme eine Platinöse voll Hefe zur Impfung der Zuckerlösungen verwendet. Beide Serien von Kölbchen wurden in den Panum'schen Thermostaten bei 25° vier Wochen lang unter öfterem gleichmäßigem Schütteln in Beobachtung gehalten. Nach Verlauf dieser Zeit wurde zur Untersuchung des Inhaltes der Kolben geschritten, welcher sich nach Anfertigung von Plattenkulturen mittelst Pepton- und Würzegeatine stets frei von Fremdorganismen erwies.

Nach dieser Kontrolle wurde der Kolbeninhalt durch gleichgroße Filter filtriert und in kubisierten Gefäßen aufgefangen. Es zeigte sich hierbei, daß fast stets mit verschwindend geringen Unterschieden das gleiche Volumen an Flüssigkeitsanteilen filtriert worden war.

a) 10-proz. Glukosehefewasser bei 25° C.

Durch Reduktion von Fehlingscher Lösung wurde eine Abnahme von 49 Proz. der ursprünglich vorhandenen Glukosemenge, durch Polarisation eine solche von 49,4 Proz. gefunden. Ein Parallelversuch bei 15° C ergab durch Reduktion 41 Proz., durch Polarisation 41,2 Proz. Zuckerabnahme. Der Bodensatz enthielt die Hefe in Torulaartigen runden Zellen.

b) 10-proz. Galaktosehefewasser bei 25° C.

Es wurde weder durch Reduktion noch durch Polarisation eine Abnahme der ursprünglich vorhandenen Zuckermenge gefunden. Die Hefe vermehrte sich ziemlich kräftig in Form von Torulaartigen Zellen.

c) 5-proz. Mannosehefewasser bei 25° C.

Es wurde weder durch Reduktion, noch durch Polarisation, noch durch Ueberführung des Zuckers in Manosazon eine Abnahme der ursprünglich vorhandenen Zuckermenge gefunden. Der ziemlich beträchtliche Bodensatz bestand aus Torulaartigen Zellen.

d) 10-proz. Fruktosehefewasser bei 25° C.

Durch Reduktion wurde eine Abnahme von 53,1 Proz., durch Polarisation eine solche von 53,3 Proz. der ursprünglich vorhandenen Zuckermenge gefunden. Die Hefe sedimentierte in Torulaähnlichen Zellen.

e) 10-proz. Saccharosehefewasser bei 25° C.

Es wurde weder durch Reduktion nach vorangegangener Inversion, noch durch Polarisation eine Abnahme der ursprünglich vorhandenen Zuckermenge gefunden.

Auch in dieser Lösung bildete die Hefe einen dichten Bodensatz, der aus kugeligen Torulaähnlichen Zellen bestand.

f) 10-proz. Maltosehefewasser bei 25 ° C.

Es wurde weder durch Reduktion, noch durch Polarisation, noch durch Ueberführung des Zuckers in das Maltosazon eine Abnahme der ursprünglich vorhandenen Zuckermenge gefunden. Der Belag war dichtliegend und bestand aus kugeligen Zellen.

g) 10-proz. Laktosehefewasser bei 25 ° C.

Es wurde weder durch Reduktion noch durch Polarisation eine Abnahme der ursprünglich vorhandenen Zuckermenge gefunden.

Die Hefezellen zeigten die Torulaartige Form.

h), i), k) 10-proz. Raffinosehefewasser, 5-proz. Dextrinhefewasser, 5-proz. Inulinhefewasser.

Das Verhalten der Hefe in diesen Nährmedien war konform dem für Laktosehefewasser beschriebenen.

Faßt man die vorliegenden Analysenresultate zusammen, so erhellt aus ihnen, daß die Hefe nur Glukose und Fruktose verzehrt, daß sie dagegen alle übrigen dargebotenen Kohlenhydrate zur Nahrungsaufnahme nicht verwenden kann. Das in diesen Zuckerlösungen oft ziemlich kräftige Wachstum geht also nur auf Kosten der im Hefewasser für den Organismus assimilierbaren Bestandteile vor sich.

Im Vergleich zu den Steuberschen Hefen, welche in ihren chemischen Leistungen genauer untersucht wurden, verhält sich die neue Hefe der ersten Varietät gegenüber am ähnlichsten, welche zwar 10 Proz. Dextrose, nicht aber Lävulose vergärt. Den übrigen Varietäten, welche Lävulose, wie angegeben, nur in geringen Mengen vergären, steht sie entschieden ferner. Saccharose greift sie in keiner Weise an, zeigt also auch nach dieser Richtung mit der Varietät 2 keine Aehnlichkeit, welche Saccharose invertieren und zwar sehr langsam, aber vollständig vergären soll. Diese Angabe erscheint übrigens nicht ganz verständlich, da diese Hefevarietät Glucose, wie aus der Arbeit Steubers zu entnehmen ist, nicht zu vergären im Stande ist, daher auch nach unseren Kenntnissen nicht Saccharose vergären kann. Es müßte denn sein, daß die durch Inversion entstandene Glukose in Fruktose verwandelt wurde, wie dies Ost¹⁾ durch Einwirkung verdünnter Schwefelsäure auf Dextrose nachwies, ein Fall, welcher bei Gegenwart von Säuren, die von Anomalous-Hefen gebildet werden, immerhin möglich wäre. Auch wäre die Vermutung nicht von der Hand zu weisen, daß vielleicht Enzyme im Spiele sind, wie dies Grafe²⁾ von der Umwandlung der Glukose in Fruktose bei *Allium cepa* annimmt. Allerdings stimmen auch diese Annahmen nicht mit dem Analysenresultat überein, da ja durch Varietät II die Lävulose selbst nur in geringer Menge vergoren werden soll.

Die neue Hefe erweist sich nach den gefundenen Resultaten gegenüber Glukose und Fruktose als verhältnismäßig schwach arbeitend, da sie innerhalb 4 Wochen trotz kräftiger Vermehrung nur gegen zirka 50 Proz. dieser Zucker zu verarbeiten vermochte.

In Bezug auf Esterbildung reiht sie sich der Hansenschen und der ersten Varietät Steubers an, welche sich durch Fruchtätherbildung auszeichnen. Speziell in Würze, weniger in den anderen Nährsubstraten, war ein deutlicher Geruch nach Essigäther wahrnehmbar, der besonders während der ersten Tage der Kultivierung auftrat.

1) Zeitschr. für angewandte Chemie. 1905. p. 1170.

2) Sitzber. Ak. Wiss. Wien. 1905.

| Name | Form der Zellen | Hautbildung | Sporenbildung | Chemische Leistungen | Riesenkolonien |
|--|---|---|---|---|---|
| 1) <i>Saccharomyces anomalous</i> Hansen (in einem bayerischen Biere gefunden); [nahestehende Formen von Lindner, Will, Zeidler, Kozai, Fischer u. Brebeck (Endblastoderma pulverulentum)] | oval, Torula-ähnlich, zuweilen wurstförmig | gleich am Anfang der Gärung eine matte graue Haut bildend | sowohl in der Haut wie im Bodensatz Sporen bildend, Ascus enthält 2—4 Sporen; Temp.-Maxim. 32° " Optimum 30° " Minimum 3° | entwickelt nach 11 Tagen 0,9 Volumteile Essig-äther (die Lindnersche Hefe vergärt Hexosen, Saccharose, Maltose) | trocken, dicht dem Nährmedium anliegend |
| 2) <i>Saccharomyces anomalous</i> var. <i>belgicus</i> Lindner (in einem belgischen Biere gefunden) | rund, Torula-artig, Bodensatzhefe auch wurstförmig, Hautzellen an Mycoderma erinnernd | entwickelt eine zuerst kreideweisse, später gelbliche Haut Optimum = 30° unter 10° kaum ein Wachstum | am Gipsblock leicht, in Riesenkolonien spärlich Sporen bildend, bei 25° schon nach 13 ^h | entwickelt keinen Geruch nach Fruchtäther, vergärt Dextrose in Spüren, nicht Maltose, Saccharose | trocken, dicht dem Nährmedium anliegend |
| 3) <i>Saccharomyces anomalous</i> Steuber: I. Varietät aus Hefewaschwasser einer badischen Brauerei | rund, Torula-artig, Bodensatzhefe auch wurstförmig, Hautzellen an Mycoderma erinnernd | entwickelt eine anfangs weisse, dann rosa bis braunrote Haut, Optimum = 30° unter 10° kaum ein Wachstum | am Gipsblock leicht, in Riesenkolonien spärlich Sporen bildend, bei 25° schon nach 13 ^h | entwickelt Essigäther in Flüssigkeiten und auf festen Nährsubstraten, bildet auch reine Essigsäure, sehr wenig Buttersäure; vergärt 10 Proz. Dextrose, Saccharose, Lävulose, nicht Maltose, Laktose, Galaktose | ganz dünner Hefebelag, an der Peripherie strahlenförmige Randzeichnung, trocken, dicht dem Nährmedium anliegend |
| 4) <i>Saccharomyces anomalous</i> Steuber: II. Varietät, von Will aus selbstgärenden Kirschen erhalten | rund, Torula-artig, Bodensatzhefe auch wurstförmig, Hautzellen an Mycoderma erinnernd | entwickelt eine anfangs weisse, dann rosa bis braunrote Haut, Optimum = 30° unter 10° kaum ein Wachstum | am Gipsblock leicht, in Riesenkolonien spärlich Sporen bildend, bei 25° nach 20 ^h | bildet keinen Essigäther, ruft in Würze keine Gärungserscheinungen hervor, vergärt sehr langsam, aber vollständig, 10 Proz. Saccharose (?), Lävulose in geringen Mengen, nicht aber Dextrose, Laktose, Galaktose, Maltose | wächst in die Dicke, trocken, färbt sich allmählich rosa bis braunrot |

| Name | Form der Zellen | Hautbildung | Sporenbildung | Chemische Leistungen | Riesenkolonien |
|--|--|--|---|--|---|
| 5) <i>Saccharomyces anomalous</i> Steuber: III. Varietät, aus dunklem Münchener Bier | | entwickelt eine zuerst weiße, dann gelbliche Haut; Optimum = 30° unter 10° kein Wachstum | auf Gipsblöcken vereinzelt, in Riesenkolonien reichlich Sporen bildend | bildet keinen Essigäther; vergärt 10 Proz. Lävulose nur in geringen Mengen, nicht aber Dextrose, Saccharose, Laktose, Galaktose, Maltose; die Laktoselösung nahm eine schwach alkalische Reaktion an | unregelmäßig, strahlig; ohne Farbveränderung, trocken, dem Nährmedium anliegend |
| 6) <i>Saccharomyces anomalous</i> Steuber: IV. Varietät, aus dunklem Münchener Bier | | entwickelt eine zuerst weiße, dann gelbliche Haut; Optimum 25°, unter 10° kaum ein Wachstum | auf Gipsblöcken nur vereinzelt, in Riesenkolonien reichlich Sporen bildend; verliert im Lauf der Zeit teilweise die Fähigkeit Sporen zu bilden | bildet keinen Essigäther; vergärt 10 Proz. Lävulose nur in geringen Mengen, nicht aber Dextrose, Saccharose, Laktose, Galaktose, Maltose; die Laktoselösung nahm eine schwach alkalische Reaktion an | anfangs weiß, später gelblich, flach ausgebreitet |
| 7) <i>Willia Wichmanni</i> Zikes (aus einer Erdprobe) | Bodensatzzellen 3—5 μ lang, 3 μ breit, Hautzellen 6—40 μ lang; Temperaturoptimum der Entwicklung: 22° C | entwickelt eine grauweisse Haut, auf gehopfter Würze, Süßwürze, Heudekolt, Hefewasser, Kartoffelwasser, jedoch langsam | auf Gipsblöcken, Karottfein, gelber Rübe, in Häuten, in den Riesenkolonien von Pepton-gelatine, Würzgelatine | bildet Essigäther; assimiliert Dextrose und Lävulose, aber sehr langsam | schleimig, tropfenförmig sich ausbreitend, ohne jede Zeichnung; besonders typisch auf Würzgelatine und Saccharoseagar |
| 8) <i>Willia saturnus</i> Klöcker (aus Erde von Himalaya) | kugelförmig oder etwas oval, selten langgestreckt, 4—6 μ lang; in der Haut 10 μ und mehr; Temp. maximum der Sprossung 35—37°, Minimum 2—4° | gleich am Anfang der Entwicklung eine grüne oder weisliche Haut | Sporen eine flachgedrückte Kugel mit meridionaler Leiste. In jedem Ascus 2 bis 4 Sporen. Sporenbildung leicht auf Gipsblöcken, in Riesenkolonien, selten im Bodensatz; Temp.-Max. 28—31°, Min. 4—7° | entwickelt kräftig Fruchtäther, ruft in Würze Gärung hervor, 10 Proz. Hefewasser-Saccharoselösung ziemlich stark nach 24 h invertiert, vergärt Dextrose und Lävulose, aber nicht Maltose, Laktose und Arabinose. | |

Was die Abscheidung von tryptischen Enzymen schließlich betrifft, so konnte auf eine Bildung dieser wenigstens aus dem Verhalten der Hefe auf den verschiedenen von mir benutzten Gelatinenährböden nicht geschlossen werden. Selbst nach vielwöchentlicher Beobachtung von Strichkulturen auf Pepton-, Kartoffelwasser- und Würzegeatine war von einer Einsenkung der Kultur oder einer anderweitigen Korrodierung der Gelatinen nichts zu bemerken.

Am Schluß meines Berichtes angelangt, sei es mir gestattet, Herrn Laboratoriumsvorstand Dr. H. Wichmann, welcher mich durch zeitweise Kontrollierung meiner Beobachtungen wesentlich unterstützte und nach dem ich die neue Anomalus-Hefe Willia Wichmanni nenne, meinen herzlichsten Dank zu sagen.

Nachdruck verboten.

Ueber die sogenannte „Bios-Frage“ und die Gewöhnung der Hefe an gezuckerte Mineralsalznährlösungen.

[Aus dem landwirtschaftlich bakteriologischen Institut der Universität Göttingen.]

Von Dr. Hans H. Pringsheim.

Im Jahre 1901 hat Wildiers (1) die Wissenschaft um den Begriff eines neuen Bios, auf deutsch, eines Lebenselixirs, bereichert und dadurch gärungsphysiologische Kreise in eine schwer zu begreifende Aufregung versetzt.

Wildiers fand, daß bei geringer, von ihm nicht genau gemessener Impfgabe, in einer gezuckerten Mineralsalzlösung, die den Stickstoff in Form des Ammoniumions enthielt, weder Hefevermehrung noch Gärung beobachtet werden konnte. Zu qualitativen Versuchen bediente er sich verschieden zusammengesetzter Nährlösungen, zu weiterhin angestellten quantitativen jedoch einer Lösung, die wir jetzt schlechtweg die Wildierssche nennen wollen, und die sich durch das unnütze Vorhandensein eines Niederschlags, bedingt durch eine Ausfällung von Calciumphosphat, auszeichnet. Die von Wildiers verwandte Hefe war im ersten der von ihm angeführten Versuche eine obergärige vom Typus der *Saccharomyces cerevisiae* I, die auf Brauereiwürze vorkultiviert war, im zweiten Falle eine Preßhefe (*levûre royale belge*). Von der ersten Hefe waren mindestens 5 Tropfen (über deren Größe nichts gesagt wird) einer Würzekultur, im zweiten Falle $\frac{1}{4}$ ccm einer Hefeaufschwemmung im zehnfachen Volumen Wasser nötig, um Gärung hervorzurufen. In beiden Fällen wurde also eine untere Grenze für die Größe der Hefegabe gefunden, die bei No. 2 durch die Größe einer Stecknadelspitze Preßhefe charakterisiert war. Weiterhin wurde festgestellt, daß größere Hefegabe beschleunigte Gärung hervorruft, und daß die untere Wachstumsgrenze bei der Preßhefe weit höher liegt als bei der Würzehefe.

Wildiers stellt nun die Frage, ob die Zahl der ausgesäten Zellen an sich das Wachstum und die folgende Gärung beschränke, oder ob es eine chemische Substanz sei, die im Falle des Nichtwachstums fehle? Er entscheidet im zweiten Sinne. Denn bei Zusatz einer Hefeaufkochung stellt sich von 3 ccm einer unfiltrierten Hefeaufkochung an

sofortiges Wachstum auch bei 2 Tropfen der Impfgabe ein, das sich natürlich bei größerem Zusatz intensiver gestaltete. Die weitere Frage, ob es die Hefezellen selbst oder die Flüssigkeit, in der sie schwimmen, sind, welche die hypothetische Substanz, die zum Wachstum nötig sei, einschlieÙe, wird wieder im zweiten Sinne entschieden. Eine durch Chamberland-Filter gepreÙte Hefeabkochung wirkte in demselben Sinne.

Trotzdem nun Wildiers in Berücksichtigung zieht, daß Hefenwasser ein für Hefe ausgezeichnetes Nährmedium ist, führt er das durch seinen Zusatz begünstigte Wachstum der geringen Aussaat doch nicht auf die zugegebenen, leicht assimilierbaren Nährstoffe zurück, sondern glaubt an eine der Hefe lebengebende Substanz, die im Hefenwasser enthalten ist, und nennt diese dann das Bios. Nach dieser Namensgebung versucht Wildiers die Eigenschaften des Bios zu erforschen. Es ist 1) löslich in Wasser, 2) unlöslich in absoluten Alkohol und Aether, dagegen löslich in 80-proz. Alkohol, 3) nicht in der Hefemasche enthalten, 4) wird es durch Kochen einer fünfvolumen-proz. Schwefelsäure nicht, wohl aber durch 20-proz. Schwefelsäure zerstört, wobei unter Schwärzung gleichzeitige Oxydation und Reduktion (!) stattfinden soll; 5) wird Bios durch Kochen mit 5-proz. Natronlauge zerstört, aber 6) durch Bleiacetat nicht gefällt. Nach dem Behandeln mit Bleiacetat rufen andere Fällungsmittel organischer Stickstoffverbindungen wie Phosphorwolfram- und Molybdänsäure, Bleizucker, Silbernitrat und Quecksilberchlorid nur schwachen Niederschlag hervor. Nach dem Ausfällen der genannten Fällungsmittel bleibt das Filtrat als Bios aber immer noch sehr wirksam; 8) sollen keine der folgend genannten Verbindungen die aktive Substanz des Bios enthalten: Harnstoff, Asparagin, Analin (?), Tyrosin, die Nukleinbasen, Adenin und Guanin, Thymusnukleinsäure, Creatin und die peptischen und tryptischen Verdauungsprodukte chemisch reiner Albumosen; 9) ist das Bios durch Pergamentpapier dialysierbar; 10) findet es sich in Liebigs Fleischextrakt, in Handelspeptonen und Gerstenmalzwürze, wobei vom Autor auf den Unterschied zwischen Handelspeptonen und Eiweißverdauungsprodukten hingewiesen wird. Schließlich wird unter 11) behauptet, daß die Hefe bei ihrer Vermehrung kein neues Bios bilde!

Der von Wildiers gewählte Name „Bios“ hätte nur Sinn, wenn die hypothetische Substanz sich immer nur von Hefe auf Hefe übertrüge. Da nach seiner eigenen Angabe aber auch Handelspeptone, Würze und Fleischextrakt die Substanz enthalten, so verwirrt sich die Fragestellung. Die Wildierssche Bemerkung, daß verschiedene Substanzen, unter 8) angegeben, das Wachstum nicht wie Bios fördern, beruht wohl zum Teil auf einem Irrtum¹⁾, zumal sich genauere Angaben über seine Versuche in Bezug auf diesen Punkt in seiner Veröffentlichung nicht finden. Der Irrtum tritt schon deutlich durch den Unterschied hervor, den Wildiers zwischen den Handelspeptonen und den im Laboratorium dargestellten Eiweißabbauprodukten fand.

Der ganze Gedankengang der Wildiersschen Arbeit wird nun noch ganz besonders dadurch verwirrt, daß er immer die Hefeabkochung als Bios verwandte. Nur dem sehr aufmerksamen Leser kann es so klar werden, daß Wildiers eine Substanz meint, die sich auch noch in anderen als hefehaltigen Lösungen vorfindet.

1) Vergleiche dazu P. Lindner, Wochenschrift für Brauerei. Bd. XXII. 1903. p. 528.

Die Beobachtungen Wildiers finden Bestätigung durch andere Autoren, die zum Zwecke ihrer Erklärung am Ende besprochen werden sollen. Hier sei nur angeführt, daß Lafar in Bd. IV. 1. p. 100 seiner technischen Mykologie die Frage folgender Worte würdigt: „Das eben dargelegte Problem ist zu neu, als das sich jetzt schon ein abgeschlossenes Urteil darüber abgeben ließe. Jeder Tag kann eine neue Beobachtung bringen, welche eine ganz unerwartete Perspektive eröffnet. Darum war in vorstehenden Zeilen eine sehr knappe Darstellung geboten. Eins aber steht wohl als Tatsache heute schon fest, daß in einer gezuckerten Mineralsalzlösung, welche den Stickstoff ausschließlich in Form von Ammon enthält, Zellvermehrung und Gärwirkung nur dann eintreten, wenn die Anzahl der eingepflichten Zellen nicht unter ein Minimum herabsinkt, welches in seiner absoluten Größe noch nicht genau bestimmt und wahrscheinlich von den übrigen Versuchsbedingungen abhängig ist.“

Beim Durchdenken der Tatsachen, auf die sich die Wildierssche Hypothese stützt, drängt sich dem nüchternen Geiste sofort folgendes auf: In Lösungen, die organisch gebundene Nährstoffe enthalten, genügt eine Zelle zur Vermehrung, für Nährlösungen jedoch, die Nährstoffe, mit Ausnahme des Zuckers, nur in mineralischer Bindung enthalten, bedarf es mehrerer oder im Vergleich zu einer vieler Zellen. Der Einfluß dieser Bindung wird vor allem beim Stickstoff, außerdem noch beim Phosphor und Schwefel hervortreten. Der Kürze wegen soll im folgenden hauptsächlich die wichtigste Bindungsverschiedenheit des Stickstoffs zur Erläuterung dienen.

Die Hefe verwendet die Nährstoffe zum Aufbau ihrer Leibessubstanz. Ist Stickstoff, Phosphor und Schwefel in Form von Eiweißabbauprodukten, wie Peptonen, vorhanden, dann bedarf die Hefe zum Aufbau ihres Eiweißes einer geringeren Menge Energie, als wenn sie Ammoniakstickstoff den Phosphor und Schwefel mineralischer Salze zum Eiweiß erheben muß. Durch diese Betrachtung ist daher der Unterschied im Verhalten der Hefe gegenüber beiden Bindungsformen, von Stickstoff, Phosphor und Schwefel, beiden Nährlösungen, charakterisiert.

Nun kann Hefe bei größerer Impfgabe auch mineralische Nährstoffe zum Eiweißaufbau verwenden. Warum tut sie es aber in geringer Impfgabe nicht? Die Antwort auf diese Frage lautet, daß die Hefe im stande ist, sich an die Verarbeitung mineralischer Nährstoffe zu gewöhnen. Bei größerer Impfgabe lebt Hefe zuerst von der Eiweißsubstanzen, die sie selber mitbringt, wobei durch Zerfall ihres Eiweißes organisch gebundener Nährstoffe in die Nährlösung übergehen. Im Falle der geringen Impfgabe ist die Menge des mitgebrachten Eiweißes zu gering, um anfängliches Wachstum zu ermöglichen. Im ersteren Falle sprossen ein Paar überlebende auf Kosten absterbender Hefezellen in Berührung und teilweiser Ausnutzung der mineralischen Nahrungsform. In diesen wenigen Generationen gewöhnen sie sich an die Verarbeitung der letzteren; im zweiten Falle sind die wenigen Zellen bald gestorben, so daß gar keine Vermehrung und Ausnutzung des Ammoniakstickstoffs eintritt¹⁾.

Eine scharfe Grenze für die Zahl der auszusäenden Hefezellen läßt

1) Vergleiche hierzu W. Henneberg, Zeitschr. für Spiritusindustrie. 1904. No. 4. p. 11. Interessant ist, daß im hängenden Tropfen einige Hefezellen die übrigen lange überleben und auf Kosten der abgestorbenen üppig sprossen.

sich demnach nicht ziehen. Wachstum wird in solchen Fällen durch die verschiedensten Faktoren bestimmt. Die Quantität der beimpften Lösung, Temperatur, sonstige Zusammensetzung der Lösung wie Verschiedenheit der verwandten Salze, Säuregrad und dergleichen mehr, vor allem aber auch die Stickstoffmenge der verwandten Hefe, wirken hier mit ein.

Gibt nun Wildiers eine geringe Menge einer Hefenabkochung zu seiner Nährlösung mit geringer Impfgabe, dann versorgt er die wenigen Zellen mit den nötigen Mengen organisch gebundener Nährstoffe, die bei größerer Impfgabe absterbenden Zellen überlebenden geliefert hätten.

So erklärt sich auch seine Beobachtung, daß zur Hervorrufung des Wachstums es einer geringeren Menge der in Würze vorgezuchteten als der Preßhefe bedurfte. Denn Preßhefe, besonders die nach dem Lüftungsverfahren gewonnene, ist bekanntlich sehr arm an Stickstoff, ja enthält manchmal nur 3 Proz., während in an organischen, stickstoffreichen Lösungen gewachsene weit mehr bis 15 Proz. enthalten kann.

Die angeführte Theorie, die die Wildierssche und Anderer Beobachtungen erklärt, wird durch eine Reihe von mir angestellter Versuche erhärtet.

Wird auf Most vorgezuchtete Hefe, in meinem Falle Weinhefe des Typus Oppenheimer Kreuz, in verschiedenen Nährlösungen, die Stickstoff als Ammoniak enthalten, ausgesät, so verhält sie sich bei reichlicher Aussaat, einer Oese, verschieden. In Pasteurscher¹⁾ und Nägelischer²⁾ Nährlösung, die weinsaures Ammoniak enthalten, trat Vermehrung in dem Maße ein, daß Gärung schon nach einem Tage zu beobachten war. In Mayerscher³⁾ Nährlösung mit salpetersaurem Ammoniak bedurfte es dazu zweier Tage, bei Wildiersscher 14 Tage; die Laurentsche zeigte die Erscheinung erst nach 2 Monaten.

Wichtiger ist, daß dies beim ersten Abimpfen aus der gärenden Wildiersschen Lösung in dieselbe Lösung schon nach 4 Tagen, d. h. also 10 Tage früher als beim Ueberimpfen aus Most, beim zweiten nach drei, beim dritten nach zwei und beim vierten Abimpfen schon nach einem Tage zu beobachten war. Das Gleiche wurde beim Abimpfen aus der gärenden Laurentschen Lösung in ebensolche gefunden. Hier trat Gärung schon nach etwa 6 Tagen, also 2 Monate weniger 6 Tage früher, ein als beim Ueberimpfen aus Most.

Aus diesen Tatsachen folgt, daß die von mir verwandte Hefe durch Verarbeitung von Ammoniak Stickstoff an eine Aufopferung der dazu nötigen größeren Energie gewöhnt worden war.

Dieser Erwägung folgend, wurde nun versucht, ob Hefe, die in mineralischer Nährlösung vorgezuchtet war, auch bei Aussaat weniger Zellen zum Wachstum gebracht werden könnte. Bei Aussaat von 10 Zellen wurde in Nägelischer Nährlösung in 10 Reagenzrohren mit

| Auf 1 l Wasser 100 g Zucker und von Salzen | | |
|--|------------------------------------|------------------------------------|
| 1) 5 g KH_2PO_4 | 2) 2 g KH_2PO_4 | 3) 5 g KH_2PO_4 |
| 1 g $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ | 0,4 g MgSO_4 | 5 g MgSO_4 |
| 1 g $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ | 0,2 g CaCl_2 | 0,5 g $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ |
| 10 g weinsaures Ammon | 10 g weinsaures Ammon | 7,5 g NH_4NO_3 |
| | 4) 0,75 g KH_2PO_4 | |
| | 0,1 g MgSO_4 | |
| | 5 g $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$ | |
| | 1 g Weinsäure | |

je 10 ccm, in 10 Reagenzrohren mit je 5 ccm und in 10 Reagenzrohren mit je 1 ccm in allen Fällen gutes Wachstum beobachtet. Die Quantität der beimpften Flüssigkeit schien daher für vorgezüchtete Hefe belanglos zu sein. Durch dieses Resultat ermutigt, wurde nun an die Aussaat einer Zelle geschritten. Jedermann wird zugeben, daß in diesem Falle des Wachstums, bei dem der Hefe kein Bios hilfebringend zur Seite stehen kann, die Wildierssche Hypothese und weitere aus ihr gezogene Schlußfolgerungen in ein nichts zerfallen!

Die Prüfung wurde zuerst mit gewöhnlichem Kristallzucker unternommen. In Wildiersscher Lösung gewachsene Hefe wurde gezählt und nach dem Hansenschen Verdünnungsverfahren 10 Kölbchen mit je einer Zelle geimpft. Die Kölbchen wurden nach kräftigem Umschütteln 5 Tage stehen gelassen. Dann erschienen die charakteristischen Hefeflecke, die gut getrennt lagen. In 8 Kölbchen war je eine Kolonie, in einem zwei und in einem keine Kolonie gewachsen. Die Summe der Zellen, die ich aussäen wollte, entsprach daher genau der Anzahl der gebildeten Hefeflecke. Es waren daher wohl alle Hefezellen zum Wachstum gekommen. Die Kolonien wurden bei mikroskopischer Prüfung rein befunden.

In genau derselben Art wurden in Wildiersscher Lösung vorgezüchtete Hefezellen in 14 Kölbchen mit Nägelischer Nährlösung ausgesät. Nach 5 Tagen wurden 5 Kölbchen mit einer, eins mit zwei, drei mit drei und fünf mit keiner Kolonie gefunden. Es waren daher 16 Zellen zum Wachstum gekommen, d. h. durch den Versuchsfehler der Verdünnung zwei mehr als beabsichtigt ausgesät.

Trotzdem nun verschiedene Autoren mit derselben Zuckerart bei geringer Aussaat kein Wachstum beobachtet hatten, wurde doch den Versuchen anderer Rechnung getragen und die Aussaat mit chemisch reinem Rohrzucker (Merck) wiederholt. In 17 Kölbchen, die mit je einer Zelle — in Wildiersscher Lösung vorgezüchteter Hefe — in Wildiersscher Nährlösung beimpft worden waren, zeigten sich nach 13 Tagen Wachstum in Gestalt von Hefeflecken. 9 Kölbchen enthielten einen, zwei zwei, eins drei und fünf keine Hefekolonie. Die Anzahl der Kölbchen 17 korrespondierte wiederum gut mit der Anzahl der gezählten Kolonien 16, was auf Wachstum aller oder fast aller ausgesäter Hefezellen schließen läßt.

In Nägelischer Nährlösung vorgezüchtete Hefe, wenigstens die von mir verwandte Form, eignet sich weniger zu diesen Versuchen, nicht weil dann weniger gut Wachstum eintritt, sondern weil die Zellen auch durch kräftiges anhaltendes Schütteln so schwer zu trennen sind, daß einzelne Zellen nicht gut ausgesät werden können. Immerhin möchte ich anführen, daß ich in einer ganzen Reihe von Kölbchen eine geringe Anzahl derartig vorkultivierter Hefezellen in Nägelischer Lösung zum Wachstum brachte, wobei ich mich durch Aussaat auf Mostgelatine über die Ursache der Unregelmäßigkeit informierte. Auch auf Most kamen öfters mehrere getrennte Kolonien zum Wachstum.

Man könnte nun einwenden, daß die von mir verwandten Reagentien nicht stickstofffrei waren, insbesondere, daß der Zucker Stickstoff in organischer Bindung enthielt. In der Tat trat ja das Wachstum auf dem sogenannten chemisch reinen Zucker langsamer als auf Kristallzucker ein. Wildierssche Nährlösung mit Kristallzucker und ohne Ammoniakgabe gestattete wirklich vorgezüchteter Hefe eine Vermehrung

8*

in geringem Grade¹⁾. Die Zellen wurden in diesem Falle aber bald körnig.

Es mußte also noch genau bewiesen werden, daß die von mir verwandte Hefe, wenn sie direkt aus Most entnommen wurde, in der Wildiersschen Lösung bei kleiner Impfgabe nicht zum Wachstum kam. In 13 Kölbchen mit einer Zelle solcher Hefe beimpft, fand aber nach 15 Tagen, d. h. einer Zeit, wo schon Hefeflecke mit vorgewöhnter Hefe zu sehen waren, kein Wachstum statt. Der Gegensatz war also deutlich bewiesen. Die Gewöhnung ist es, die der Hefezelle die Assimilation des Ammoniakstickstoffes erleichtert.

Wildiers spricht in seiner Veröffentlichung speziell von Bierhefen. Von vornherein war nicht anzunehmen, daß diese sich von der von mir verwandten Weinhefe verschieden verhalten würden. Doch auch hier wurde zum experimentellen Beweise geschritten. Die Hefe Saaz aus Most, durch reichliche Impfgabe in Wildiersscher Lösung zum Wachstum gebracht, wurde nach Verdünnung auf eine Zelle in 19 Kölbchen Wildiersscher Lösung mit chemisch reinem Zucker und 6 Kölbchen Nägelscher Lösung mit reinem Zucker ausgesät. Auch diese Hefe war durch Schütteln schwer in einzelne Zellen zu zerlegen. In 5 Kölbchen mit Wildiersscher Lösung trat Vermehrung ein, 3 Kölbchen zeigten nur einen Hefefleck. 4 Kölbchen der verwandten 6 mit Nägelscher Lösung waren nach 12 Tagen durch Hefereinkultur stark getrübt, 2 enthielt nur eine Kolonie. Die Kulturen waren mikroskopisch rein.

Die Wildierssche Theorie ist daher erklärt und die Bios-Hypothese zu nichte geworden.

Daß andere Autoren, die sich mit Wildiers Hypothese befaßten, zum Teil zu sehr widersprechenden Anschauungen und Resultaten gelangten, nimmt nicht wunder, wenn man bedenkt, daß sie alle ihre Schlüsse von anderen als den im vorstehenden erläuterten, die Frage lösenden, Betrachtungen ableiteten.

A. I. Kossowicz (2) verwandte Aussaaten gezählter Hefezellen. Er fand, daß, um im Sinne der neuen Erklärung zu sprechen, der in 200 Zellen der von ihm verwandten Hefe enthaltene Nährstoff in organischer Bindung, für 100 ccm einer gezuckerten Mineralsalzlösung genügte, um überlebenden Zellen das Wachstum zu ermöglichen. Bei Aussaat einer Zelle (3) trat nur in einem von 22 Fällen schwaches Wachstum auf, das Kossowicz auf eine Verunreinigung durch Uebertragen von Nährgelatine zurückführt.

Fernbach (4) übte eine scharfe Kritik der Wildiersschen Hypothese. Er will die antiseptische Wirkung von Substanzen, die Wildiers zu seinen Lösungen verwandte, dafür verantwortlich machen, daß bei geringer Aussaat kein Wachstum eintrat. Diesen Anschauungen pflichtet auch Windisch (5) bei. Als Verteidiger Wildiers trat dann A. Amand (6) auf. Durch Konzentrationsänderungen seiner Lösungen und Zusätze verschiedener Quantitäten von bioshaltiger Hefeabkochung will er beweisen, daß das Bios nicht die Rolle eines Gegengiftes spielen kann. Windisch (7) hat auch diese Versuche einer eingehenden Be-

1) Vergleiche hierzu A. I. Kossowicz, Untersuchungen über das Verhalten der Hefen in mineralischen Nährlösungen, l. c. p. 23. Wir haben auch gesehen, daß Handelszucker Hefevermehrung und Gärung wesentlich fördert. Auch in diesem Falle dürften es die wenigen Spuren organischer Verunreinigungen sein, an denen der Handelszucker reicher ist als die reine Saccharose, welche diesen Einfluß bewirken.

sprechung gewürdigt, dabei aber, wie Fernbach, nicht in Betracht gezogen, daß gerade für Hefe geringe Kupfermengen, die im destillierten Wasser hätten enthalten sein können, wachstumanregend wirken¹⁾. Die Versuche haben jetzt an Wert verloren. Doch möchte ich noch hervorheben, wie verwunderlich es ist, daß man aus Versuchen, wie den Amandschen, die den Gärverlauf durch Kohlensäuregewichtsverlust bestimmen, d. h. sich mit dem Verlauf der Gärung und gar nicht mit der Wachstumshinderung befassen, solche Schlüsse hat ziehen können. Eine gewisse Menge Hefegift, um mit Amand zu sprechen, durch eine gewisse Menge Bios neutralisiert, gestattet der Hefe das Wachstum. Dieses tritt ein, sobald einmal das Gift neutralisiert ist. Die Hefe entwickelt sich, gärt, die Flüssigkeit verliert Kohlensäure. Der Gewichtsverlust steht also im Abhängigkeitsverhältnis zur Hefevermehrung, aber in keiner Weise zu der Frage, ob ursprünglich infolge einer Giftneutralisation Hefewachstum eintrat oder nicht.

Zu noch verwegeneren Schlüssen kommt Amand (8) über das Verschwinden des Bios in den Hefekulturen. Auf Seite 346 steht folgendes:

1) In Kulturen, die mit ausreichenden Mengen Bios angestellt wurden, findet sich nicht mehr dessen ganze Menge, weder im Filtrat, wo sie schnell verzehrt wird und gewissermaßen ganz verschwindet, noch im Zellkörper, wenigstens nicht in löslicher Form.

2) In Kulturen, die mehr als nötig Bios enthalten, wird die Gabe fast ganz ausgenützt, so daß man in der gebildeten Hefe nur eine sehr geringe Menge vorfindet.

Auf einen Widerspruch in den Schlußfolgerungen Wildiers hat schon Krieger (9) hingewiesen. Wenn nämlich die Hefe kein neues Bios bilde, wie könne es dann in der Hefeabkochung vorhanden sein?

Windisch entgegnet dem (l. c. p. 3), daß die Hefe aus den eiweißhaltigen Nährlösungen die nötige Menge Bios aufnimmt und speichert. Welche Verwirrung von Begriffen laufen hier durcheinander! Bios findet sich in der Hefenabkochung, Bios wird nicht von Hefe gebildet, Bios gehört gar nicht zur Hefe als solcher — denn doch nur mit dieser Forderung hat die ganze Theorie Sinn — sondern ist auch außerhalb in Nährlösungen vorhanden.

Um auf die Versuche Amands zurückzukommen. Er läßt Hefe mit Bios wachsen. Dann filtriert er und versucht, ob das Filtrat neues Wachstum befördere. Es ist nicht der Fall. Die filtrierte Hefe liefert beim Kochen auch kein Bios oder im Falle der ursprünglich größeren Anwesenheit nur geringe Mengen. Das Bios ist daher verschwunden. Wie verlief die Sache in Wirklichkeit? Die Hefe verwandte zuerst natürlich die organisch gebundenen Nährstoffe. Sie werden der Lösung entzogen und finden sich nun im Hefeeiweiß. Die Hefezellen geben beim Kochen keinen oder nur sehr wenig Eiweißabbauprodukte an die Lösung ab, da die Zellen gleich nach dem Filtrieren gekocht wurden. Die Hefe, in mineralischer Nährlösung gewachsen, enthält überhaupt wenig Stickstoff. Die proteolytischen Enzyme sind schwach und haben noch nicht gewirkt. Hätte Amand ein paar Tage oder Wochen gewartet, dann hätte er der Hefe das schönste Bios entziehen können, in Gestalt löslich gemachten Eiweißstickstoffs.

1) Vergleiche hierzu F. Krüger, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. I. 1895. p. 10.

Weiterhin fanden Kossowicz und Amand, daß gleichzeitiges Wachstum anderer Pilze (*Penicillium glaucum*, *Mycoderma*) der Hefe das Wachstum auch bei geringer Aussaat in mineralischer Nährlösung ermöglichen, daß also auch sie Bios bilden. Auch diese Beobachtung ist leicht erklärlich. Die genannten Pilze assimilieren Ammoniakstickstoff mühelos. Ihr Eiweißzerfall versieht dann die Hefe nach einiger Zeit mit dem nötigen organisch gebundenen Stickstoff. Bei diesen Betrachtungen muß man aber immer im Gedächtnis halten, daß ja nur eine sehr geringe Menge organisch gebundener Nährstoffe nötig sind, um anfängliche Hefevermehrung aufkommen zu lassen.

T. Chrzaszcz (10) hat unsere Kenntnis des Hefewachstums in mineralischen Nährlösungen um keinen neuen Beitrag bereichert.

Nur Henry (11) findet Wildiers Beobachtungen nicht bestätigt. Er brachte verschiedene Heferasen (Rohrzuckerhefe des Institut Pasteur zu Paris, Hefe Logos, Burton, Berliner Rasse II, *Sacch. Ludwigii*) in 3 Würzetropfen zur Aussaat und konstatierte reichliches Wachstum in 200 ccm mineralischer Nährlösung. Bemerkenswert ist noch, daß auch er Wildiers Behauptung, die Hefe vermöge kein neues Bios zu bilden, entgegnet. Er säte 5 Tropfen aus 500 ccm mineralischer Nährlösung, in der er Wachstum durch 3 Würzetropfen hervorgerufen hatte, aus, d. h. nur den $\frac{1}{666}$ Teil der ursprünglichen Biosmenge und fand nun wieder Wachstum, ganz in Uebereinstimmung mit meinen Resultaten.

Wenn ich im Vorangegangenen auf die Hauptpunkte, die zur Stütze der Bios-Theorie vorgebracht worden sind, eingegangen bin, so findet das seine Erklärung in meiner Hoffnung, daß gewisse widersprechende Beobachtungen, die ich erklären wollte, nicht von neuem kombiniert werden, um das Gebäude dieser Lebenselixirtheorie vor dem Einsturz zu bewahren. Erschöpfend konnten alle Punkte nicht behandelt werden. Ich befinde mich überdies mit meinen Anschauungen mit Will (12) in Uebereinstimmung. Dieser fügt in seinem Referat der Wildierschen Arbeit folgende Worte bei: „Mit der Einsaat gelangen Zellen sehr verschiedener Entwicklungsstadien in die Nährlösung. Ein Teil dieser Zellen ist offenbar von vornherein noch ungeeignet, sich den veränderten Verhältnissen anzupassen. Auch von den übrigen Zellen, welche bereits auf dem Höhepunkt der Entwicklung stehen, also im allgemeinen widerstandsfähiger sind, bleibt nur ein Teil event. überhaupt keine am Leben. Je größer die Einsaat ist, desto größer wird die Möglichkeit, daß Zellen durch Auswahl der widerstandsfähigsten am Leben bleiben. Daß bei diesem Kampf die überlebenden Zellen durch die aus den absterbenden und abgestorbenen Zellen austretenden Zersetzungsprodukte während der Anpassung an die neuen Verhältnisse eine gewisse Unterstützung erfahren, ist wohl ohne weiteres anzunehmen“. Auch der Einwand, daß ich bis jetzt nur versucht habe, zwei Hefearten an die Assimilation mineralischer Nährstoffe zu gewöhnen, darf nicht erhoben werden. Die Frage ist eine prinzipielle. Wenn meine Hefe kein Bios braucht, so ist es eben zum Hefewachstum in mineralischen Nährlösungen nicht nötig, mag anderen Heferasen auch die Aufnahme von Ammoniakstickstoff schwerer werden.

Zum Schluß möchte ich noch darauf hinweisen, daß die von mir geschilderte Gewöhnung der Hefe eine sehr schnelle ist, da schon wenige Generationen genügen müssen, um der Hefe den Ammoniakstickstoff zugänglich zu machen. In der Tat wurde meine Hefe nur einmal in

mineralischer Nährlösung umgeimpft, ehe einzelne Zellen ausgesät wurden. Die Gewöhnung der Hefe bezieht sich nur auf die Fähigkeit zur Stickstoffaufnahme. Das Endresultat in Bezug auf Wachstum und Gärung wurde nicht beeinflusst. Es wurden durchschnittlich 40 Millionen Hefezellen in 1 ccm der mineralischen Lösung gefunden, während in (unserem) Most etwa 80 Millionen Zellen vorhanden sind. Aber auch hier ist das Ausbleiben eines Einflusses auf die Hefeernte im Falle der vorgewöhnten Hefe nur natürlich. Denn mit in Most vorkultivierter Hefe sind schon nach ein paar Generationen die ausgesäten Zellen in genau demselben Zustande wie die, welche zuerst in mineralischer Lösung gezogen und dann erst in solcher ausgesät worden waren.

Herrn Prof. A. Koch bin ich für Ratschläge, die er mir während der Arbeit erteilt hat, zu vielem Dank verpflichtet.

Göttingen, den 3. Februar 1906.

Litteratur.

- 1) Wildiers, E., *La Cellule* T. XVIII. 1901. p. 313.
- 2) Kossowitz, Al., *Zeitschr. f. d. landw. Versuchswesen Oesterreichs*. Bd. VI. 1903. p. 27.
- 3) —, Bd. VI. p. 731.
- 4) Fernbach, *Ann. de la Brasserie et de la Distillerie*. 1901. p. 510.
- 5) Windisch, *Wochenschrift für Brauerei*. Bd. XIX. 1902. No. 1. p. 2.
- 6) Amand, A., *La Cellule*. T. XX. 1902. p. 225.
- 7) Windisch, *Wochenschrift für Brauerei*. Bd. XIX. N. 37. p. 527—532.
- 8) Amand, A., *La Cellule*. Bd. XXI. 1904. p. 329.
- 9) Krieger, *Amerikanische Bierbrauer*. Jahrg. 1901. p. 712.
- 14) Chrzaszcz, T., *Zur Kenntnis des Hefewachstums in mineralischen Nährlösungen*. (*Centralbl. f. Bakt. Abt. II*. Bd. XIII. 1904. p. 144.)
- 11) Henry, *Ann. de la Brasserie et de la Distillerie*. 1902. p. 129.
- 12) Will, *Kochs Jahresbericht*. Bd. XII. p. 135.

Vergleiche noch:

Lindner, P., *Technische Biologie*. (*Chem. Zeitschr. I. Jahrg. XIII*.)
Ann. de la Brasserie. 1903. No. 2. (article non signé). *Revue scientifique* 1903.
 21 février.

Nachdruck verboten.

Ueber das Verhalten einer Bacillenwolke im fließenden Wasser.

[Aus dem hygienischen Institut zu Göttingen.]

Von Dr. Busch in Ratzeburg.

Seitdem man angefangen hat, städtische Abwässer mitsamt den Fäkalien öffentlichen Stromläufen zu übergeben, sind die Fragen der Wasserversorgung und Abwässerbeseitigung mehr denn je in ein abhängiges Verhältnis zueinander getreten. Und das mit Recht! Denn es ist klar, daß in allen denjenigen Fällen, wo die Bewohner einer Ortschaft ihr Trinkwasser einem Flusse entnehmen, in dem die Bewohner einer anderen, weiter oberhalb gelegenen Ortschaft ihre Abwässer einleiten, zwischen beiden Wechselbeziehungen bestehen, die für die Unterlieger event. verhängnisvoll werden können, indem letztere der Gefahr von Infektionskrankheiten ausgesetzt sind, welche von der oberhalb gelegenen Ortschaft aus auf dem Wasserwege verschleppt werden. Ob-

gleich man nun annehmen sollte, daß die theoretischen Bedenken, die somit eigentlich jeder Einleitung von Abwässern, zumal mit Fäkalien in Flußläufe von vornherein entgegengestellt werden müssen, die Entwässerung der größeren Städte zu einem immer schwieriger zu lösenden Problem machen würden, so ist doch gerade das Gegenteil der Fall. Man ist mit der Einleitung von Abwässern in Flüsse fast von Jahr zu Jahr weniger rigoros geworden, sobald man sich auf die Erfüllung einer Bedingung verlassen konnte: auf die Selbstreinigung des betreffenden Flusses innerhalb einer bestimmten Zone. Dieser Prozeß der Selbstreinigung setzt sich, wie wir wissen, aus einer Reihe verschiedener Faktoren zusammen, als deren wichtigste heutzutage wohl angesehen werden dürfen: die allmähliche Verdünnung der Abwässer durch das Flußwasser selbst, die Sedimentierung, der Einfluß des Lichtes und endlich die Einwirkung von konkurrierenden Saprophyten, Algen und Bakterien, oder allgemein ausgedrückt, der Einfluß der im Wasser sich vollziehenden biologischen Prozesse.

Wenn wir nun von einer Wasserinfektion sprechen, so verstehen wir darunter schlechtweg eine durch spezifische Krankheitserreger bedingte Infektion, wir haben also von den unendlich vielen und verschiedenartigen im Wasser suspendierten Teilen nur die Bacillen im Auge und würden, wenn wir in diesem Sinne von der Selbstreinigung eines Flusses sprechen wollten, dieselbe dann für gegeben erachten, wenn der betreffende Fluß von den an irgend einer Stelle, z. B. durch Einleitung städtischer Abwässer, ihm übergebenen Bacillenmassen sich soweit gereinigt hat, daß sein Wasser den früheren Reinheitsgrad wiedererlangt hat. Ohne nun auf eine Entscheidung darüber einzugehen, welchem der obengenannten Faktoren bei der Selbstreinigung eines Flusses im allgemeinen die größte Bedeutung zufällt, wollen wir, da wir bei den später zu erwähnenden Versuchen lediglich die auf Rechnung der allmählichen Verdünnung zu setzende Selbstreinigung eines Flusses in Betracht gezogen haben, im folgenden auch nur diese im Auge behalten, die übrigen Momente dagegen unberücksichtigt lassen. Bezüglich der Verdünnung sagt nun Ru b n e r (10) in einer unlängst erschienenen Arbeit: „Mit dem Maximum derselben ist schon eine erhebliche Reinigung erreicht, denn die Verdünnung bietet sichtliche und leicht nachzuweisende bakteriologische Vorteile. Die Unterschiede in der Bakterienzahl verwischen sich unter keinen Umständen.“ Derselbe Autor weist aber andererseits und mit Recht auch auf die Unsicherheit dieser Beurteilung hin, indem er betont, daß, wenn auch das im Wasser Suspendierte durch die Verdünnung mit reinem Wasser unbedenklicher wird, es andererseits doch seine Natur unverfälscht bewahrt und durch eine Verdünnung die Wirksamkeit einer schwebenden Substanz nicht geändert wird. Und mit Bezug auf die Bakterien fährt der Autor dann fort: „Will man das Kriterium wiedererlangter Reinheit des Wassers in dem Absinken der Keimzahl erblicken, was im allgemeinen wichtig ist, so schließt dies doch wieder eine Ungleichheit in sich, indem die Arten der Individuen bei diesem Vergleich verschieden sein können.“ Hieraus geht klar hervor, daß, wenn wir uns von dem Einfluß der Verdünnung als flußreinigenden Momentes einen richtigen Begriff machen wollen, wir streng genommen nicht die allmähliche Abnahme der Bakterien überhaupt als sicheren Maßstab dafür anlegen dürfen, sondern nachzuweisen versuchen müssen, in welcher Weise eine zuvor approximativ abgeschätzte Anzahl gleichartiger Bakterien im Verlaufe einer bestimmten Strecke eines Fluß-

bettes durch das Flußwasser verdünnt, d. h. verteilt wird. Nur wenn wir so vorgehen, bekommen wir auch ein ungefähres Bild von der durch Verunreinigung eines Flußlaufes mit virulenten Bacillen bedingten Gefahr einer Wasserinfektion, die, wie Rubner mit Recht hervorhebt, nicht nur die absolute Möglichkeit, sondern auch die Wahrscheinlichkeit der Infektion abschätzen muß.

Von diesen Erwägungen ausgehend, stellte ich im letzten Sommer eine Reihe von Versuchen an, derart, daß ich ein nach Litern berechnetes Quantum einer Reinkultur von *Prodigiosus*-Bacillen an einer bestimmten Stelle in die Leine resp. den Leinekanal schüttete und an einer anderen stromabwärts gelegenen Stelle in regelmäßigen Intervallen Wasserproben entnahm, die dann auf *Prodigiosus* hin untersucht wurden. Desgleichen goß ich, um mich dem Vorgang in der Natur möglichst zu nähern, einige Male *Prodigiosus*-Kulturen in das Wasserklosett des hygienischen Institutes und machte später in der Abwässerungsanlage Probeentnahmen zur weiteren Untersuchung. Die Wahl des *Prodigiosus* für diese Versuchszwecke lag aus verschiedenen Gründen nahe. Man mußte sich eines unschädlichen Bacillus bedienen, der einmal in dem für die Versuche benutzten Wasser (Leine, Kanalisation) normalerweise nicht vorkam, ferner eine gewisse Resistenz gegenüber dem Wasser besaß und endlich sich verhältnismäßig leicht nachweisen ließ. Alle diese Bedingungen waren im vorliegenden Falle beim *Prodigiosus* erfüllt. Daß derselbe in der Leine nicht vorkommt, ist durch die regelmäßigen Untersuchungen des Leinetalwassers im hygienischen Institut festgestellt worden. Die große Resistenz des *Prodigiosus* gegenüber dem Wasser ist durch vielfache Versuche hinlänglich erwiesen, und endlich fordert das leicht nachweisbare charakteristische Pigment des *Prodigiosus*, das im allgemeinen ziemlich sicher vor einer Verwechslung mit anderen Bakterienarten schützt, zu derartigen Versuchen geradezu auf. Ja man kann in Anlehnung an die sehr interessanten geschichtlichen und experimentellen Studien über den *Prodigiosus* von Scheurlen die Wahl gerade dieses Bacillus zu den angestellten Versuchen um so mehr rechtfertigen, als jener Autor am Schlusse seiner Arbeit sagt: „Die *Prodigiosus*-Epidemien geben ein gutes Vergleichsobjekt mit den Hausepidemien von Typhus und Cholera und sollten bei der Beurteilung der letztere erzeugenden Ursachen stets eingehend berücksichtigt werden.“ Demnach dürfte eine Parallele zwischen dem *Prodigiosus* einer- und dem Typhus- resp. Cholera-bacillus andererseits auch hinsichtlich des Verhaltens einer sogenannten Bacillenwolke der einen oder anderen Art im fließenden Wasser durchaus am Platze und ohne weiteres anzunehmen sein, daß die genannten Bacillenarten auch bezüglich ihrer allmählichen Verteilung im Flußwasser ganz analoge Verhältnisse bieten.

Nun ist es ja hinlänglich bekannt, daß Typhusbacillen häufig genug in großer Menge mit den Abwässern in Flußläufe gelangen und dadurch eine Gelegenheit zur Infektion geben können. v. Drigalski hat — in Uebereinstimmung mit einer Reihe anderer Forscher — bei seinen Untersuchungen zur Bekämpfung des Typhus festgestellt, daß Typhusranke, die als gesund aus dem Spital entlassen waren, in ihren äußerlich ganz normalen Abgängen massenhaft Typhusbacillen abschieden. Die längere Zeit fortgesetzte Beobachtung einer Rekonvaleszentin, deren Abgänge regelmäßig untersucht wurden, ergab, daß bei derselben monatelang eine Darmflora auftrat, die ausschließlich

aus Typhusbacillen bestand. Diese Person stellte also — wie v. Drigalski sich ausdrückt — geradezu ein wandelndes Kulturgefäß mit Keimen dar, das sich von Zeit zu Zeit ausschüttete. Dönitz fand im Urin einer Patientin noch 9 Monate nach der Erkrankung Typhusbacillen. Ja, es gibt erwiesenermaßen unter den Typhusrekonvaleszenten eine ganze Anzahl, die jahrelang Typhusbacillen beherbergen und mit den Faeces und Urin ständig ausscheiden. Und mit der Cholera ist es ähnlich. Es liegt nun auf der Hand, daß diese sogenannten Dauerausscheider eine permanente Gefahr für andere bilden, in erster Linie natürlich für die nähere Umgebung durch die Möglichkeit der Kontaktinfektion, dann aber auch für die weitere Umgebung durch die — wenn auch sicherlich weit geringere — Möglichkeit der Verschleppung von Typhusbacillen durch das Wasser, z. B. von Flußläufen, in welche die Dejektionen von solchen Typhusrekonvaleszenten auf dem Wege der Kanalisation oder sonstwie, z. B. von Schiffen und Flößen aus, hineingelangen.

Wir brauchen hierbei durchaus nicht immer oder nur an die Gefahr einer Trinkwasserinfektion in dem Sinne zu denken, daß Unterlieger eines derartig verseuchten Flusses ahnungslos das Wasser zu Trinkwasserzwecken benutzen. Hier würde wohl bald durch Beschaffung einwandfreien Trinkwassers Abhilfe geschaffen werden. Aber die gleiche Gefahr betrifft bei größeren Flüssen ja auch die auf denselben verkehrende und auf den Gebrauch des Flußwassers angewiesene Schiffsbevölkerung, und endlich müßten, von diesem Gesichtspunkte aus betrachtet, unter Umständen auch Badeanstalten, die in Flußläufen angelegt sind, wegen der Gefahr von Schluckinfektionen für höchst bedenklich gehalten werden. Wenn wir nun trotz aller Fortschritte in den letzten Jahren gerade auf dem Gebiete der Hygiene und Bakteriologie bis heute noch so wenig im stande sind, die Größe der Gefahr einer Wasserinfektion in speziellen Fällen einigermaßen sicher abzuschätzen, so hat das, wie Rubner hervorhebt, seinen Grund vornehmlich darin, daß wir im allgemeinen noch völlig im unklaren sind über die quantitativen Verhältnisse der Ausscheidung der Krankheitserreger, über die Wirkungen des Sielsystems, sowie über die Verteilung und Erhaltung im Flusse. Was nun speziell die Verteilung der Bakterien im Flusse betrifft, so mögen die folgenden Versuche dazu dienen, diese bisher noch wenig aufgeklärte Frage ein wenig zu beleuchten.

Den eigentlichen Versuchen mußten zunächst einige Vorversuche vorausgeschickt werden. Insbesondere kam es darauf an festzustellen, wann eine bei X in den Flußlauf resp. die Kanalisation geschüttete Bacillenwolke vermutlich bei der Schöpfstelle Y ankommen würde, da sich hiernach der Beginn mit den Probeentnahmen richtete. Zu diesem Zwecke wurde die Zeit bestimmt, welche schwimmende Gegenstände vom Ausgangs- bis zum Endpunkte gebrauchten. Zur Verwendung kamen dabei: gefärbter Häcksel, Konfettipapier, markierte Korke und Schwimmflaschen. Als die zuverlässigsten Geschwindigkeitsmesser erwiesen sich im Flusse Schwimmflaschen, im Kanalisationssystem, wo ein etwaiger Einfluß des Windes nicht mehr in Betracht kam, Korke. Häcksel und Konfettipapier wurden im Laufe der Zeit — und zwar sichtlich unter dem Einfluß verschiedenartiger Strömungen — enorm auseinandergezogen, eine Beobachtung, die schon daraufhin deutete, daß höchstwahrscheinlich auch eine Flüssigkeitsmenge einem ähnlichen Schicksal anheimfallen würde. Diese Ueberlegung führte noch zur Anwendung eines

anderen Versuches, nämlich der Beobachtung einer Uraninwolke, d. h. einer bestimmten Menge konzentrierter Uraninlösung im fließenden Wasser. Wenn es sich nun hierbei auch um einen rein chemischen Vorgang handelte, und die Verteilung einer bis ins Unendliche sich verdünnenden Uraninwolke im fließenden Wasser naturgemäß eine viel gleichmäßigere sein mußte, als die einer Bacillenwolke, bei deren Verteilung im Wasser mehr physikalisch-biologische Momente in Betracht kamen, so durfte man doch annehmen, daß die Art der Verteilung im Wasser, d. h. das allmähliche Auseinandergezogenwerden unter dem Einfluß verschiedenartiger Strömungen, bei beiden in analoger Weise vor sich gehen würde. Für diese Vorversuche sowie für die dann folgenden ersten vier Versuche mit *Prodigiosus* wurde die ca. $2\frac{1}{2}$ km lange Strecke des Leinekanals vom sog. Waageplatz (W) innerhalb der Stadt bis zur außerhalb derselben gelegenen Maschmühle (M) benutzt. Der Leinekanal führt hier eine durchschnittliche Wassermenge von 7,5 cbm pro Sekunde. Die Stromgeschwindigkeit ist äußerst gering, sie beträgt nach den an verschiedenen Stellen mit dem *Woltmannschen* Flügel von mir vorgenommenen Messungen durchschnittlich nur ca. 0,3 m pro Sekunde, ist jedoch täglich geringen Schwankungen unterworfen, welche von dem Schleusenbetrieb an der Maschmühle abhängen. Durchschnittlich brauchten Schwimmflaschen, welche bei W in den Leinekanal geworfen wurden, 1 Stunde 20 Min. bis zur Ankunft bei M. Zur Probenentnahme wurden 150 g-haltige Flaschen benutzt. Bei der Untersuchung der Wasserproben auf Uranin wurde das von Trillat ersonnene sogen. Fluorescop verwandt, durch das die Sensibilität der Untersuchungsmethode außerordentlich vergrößert worden ist. Der sehr einfache Apparat, welcher sich auf die Eigentümlichkeit des Fluorescins resp. Uranins gründet, daß man es in hohen Verdünnungen viel leichter nachweisen kann, wenn man letztere über einer schwarzen Unterlage prüft, besteht aus zwei ca. 1,22 m langen, aus weißem Glas gefertigten Tuben von 2 cm lichter Weite, die ringsum mit glänzendem schwarzen Papier beklebt sind. Dieselben werden senkrecht nebeneinander aufgestellt und in die eine Tube gewöhnliches, in die andere dagegen das auf Uraninfarbstoff zu untersuchende Wasser bis ca. 1 cm vom oberen Rande getan, sodann durch Betrachtung von oben die Farbe beider Flüssigkeiten miteinander verglichen und aus der charakteristischen grünlichen Farbe event. auf Uraningehalt geschlossen. Bei etwaigen Trübungen müssen sämtliche Proben zunächst filtriert werden. Mit Hilfe dieses Fluoreskops ließ sich das Uranin im Wasser des Leinekanals noch in einer Verdünnung von ca. 1:1 000 000 nachweisen.

Vorversuch I, 27. Mai.

- 1) 2^h Nachmittags Einsetzen von 5 Schwimmflaschen in den Leinekanal bei W.
- 2) $\frac{1}{2}$ Minute später Ausgießen einer Lösung von 50 g Uranin in den Leinekanal ebendasselbst.
- 3) 3^h 20' Ankunft der ersten Schwimmflasche bei M. Beginn mit Wasserentnahme in Zwischenräumen von 1 Minute. Im ganzen 20 Flaschen. Resultat der Untersuchung auf Uranin negativ.

Vorversuch II, 31. Mai.

In gleicher Weise wie vorher, jedoch statt 50 g Uranin 80 g.
Resultat der Untersuchung wiederum negativ.

Vorversuch III, 2. Juni.

In gleicher Weise wie vorher, jedoch 150 g Uranin.

Resultat der Untersuchung: In den Flaschen 2 bis einschließlich 18 Uraninfärbung.

Aus dem Resultat des letzten Vorversuches ging also hervor, daß die Uraninwolke, welche anfangs bei W etwa 10 m lang und 2 m breit war, bei M, d. h. $2\frac{1}{2}$ km stromabwärts, das Flußbett des Leinekanals bereits in einer Länge von ca. 300 m und in voller Breite desselben ausfüllte. (Die Proben waren teils in der Mitte des Flusses, teils am Ufer entnommen.) Man mußte sich also bei den nun folgenden Versuchen mit *Prodigiosus* auf eine ähnliche Ausdehnung der Bacillenwolke gefaßt machen. Bezüglich der Vorbereitungen zu den nun folgenden Versuchen mit *Prodigiosus* sowie bezüglich der Technik sei folgendes bemerkt:

Das Bakterienmaterial wurde in der Weise hergestellt, daß von einer Agarreinkultur in Peptonwasser übergeimpft und letzteres ca. 36 Stunden bei 22° C — dem Temperaturoptimum des *Prodigiosus* — stehen gelassen wurde. Das Peptonwasser hatte dann eine deutlich rote Farbe angenommen und enthielt nach approximativer Schätzung im Durchschnitt in 1 ccm ca. 15 000 000 Keime, mithin im Liter ca. 15 Milliarden Keime.

Bei der Probeentnahme des zu untersuchenden Wassers wurden 150 g-haltige sterilisierte Flaschen benutzt, die an einer besonders dazu hergestellten Stange befestigt und abgenommen werden konnten.

Zum Zwecke der Untersuchung auf *Prodigiosus* wurden aus jeder zuvor numerierten Flasche 5 resp. 8 Tropfen mittels steriler Pipette in eine Petri-Schale getan und letztere darauf mit verflüssigter Gelatine resp. Agar, welches im Wasserbad unter Kontrolle eines Thermometers auf ca. 40° flüssig gehalten wurde, beschickt.

Die Agarschalen wurden sofort nach dem Erstarren umgedreht, einmal, um einen event. Zutritt von Luftkeimen zu verhindern, sodann, um den durch Verdunstung des Wassers sets eintretenden Niederschlag von der Agaroberfläche selbst fernzuhalten, da derselbe die im Nährboden befindlichen Keime in ihrer Entwicklung außerordentlich stört. Mehr als 8 Tropfen zu nehmen empfahl sich nicht wegen des großen Reichtums des Leinewassers an Bakterien überhaupt. Von der Benutzung der Gelatine wurde nach den ersten drei Versuchen Abstand genommen, da unter den im Leinewasser vorhandenen Bakterien gelatineverflüssigende in großer Menge vorhanden und infolgedessen die Gelatineplatten größtenteils verflüssigt waren, bevor andere in der Minderheit vorhandene Bakterien, insbesondere *Prodigiosus*, überhaupt zur Entwicklung gelangen konnten.

Versuch I, 4. Juni.

- 1) 3^h 20' Einsetzen von 3 Schwimmflaschen bei W.
- 2) Nach $\frac{1}{2}$ Minute Ausgießen von 7 Litern *Prodigiosus*-Kultur in den Leinekanal bei W.
- 3) 4^h 47' Schwimmflaschen bei M auf ca. 30 m Entfernung in Sicht Beginn mit Probeentnahmen in Zwischenräumen von ca. 1 Minute. Im ganzen 20 Flaschen. Letzte Entnahme 5^h 10'.
- 4) Untersuchung: Je 5 resp. 8 Tropfen werden aus jeder der 20 Flaschen in je eine Petri-Schale getan und flüssige Gelatine darüber ausgegossen. Im ganzen also 40 Petri-Schalen.

Resultat: Nach $1\frac{1}{2}$ Tagen sieht man in den 4 Petri-Schalen, welche mit dem Wasser aus Flasche 1 und 2 beschickt sind, vereinzelte *Prodigiosus*-Keime, die übrigen Schalen zeigen auch nach weiterer Beobachtung nur Kolonien anderer Bakterienarten.

Versuch II, 8. Juni.

1) 3^h Einsetzen von 3 Schwimmflaschen bei W.
 2) Nach $\frac{1}{2}$ Minute Ausgießen von 7 Litern *Prodigiosus*-Kultur in den Leinekanal.

3) 5^h 30' Schwimmflaschen bei M auf ca. 30 m in Sicht. Beginn mit Probeentnahmen in Zwischenräumen von ca. 1 Minute. Im ganzen 20 Flaschen. Letzte Entnahme 5^h 55'.

4) Untersuchung wie beim vorigen Versuch. 40 Petri-Schalen.

Resultat: Platte 19b und 20b (b = 8 Tropfen) positiv. Die übrigen negativ.

Während also bei dem ersten Versuch nur in den beiden ersten Flaschen *Prodigiosus* nachgewiesen wurde, gelang dies beim zweiten Versuch nur in den beiden letzten.

Kombiniert man beide Versuche, was zweifellos statthaft ist, da sie unter völlig gleichen Bedingungen stattfanden, so ergibt sich, daß sowohl in den ersten als auch in den letzten Probeentnahmen Keime gefunden wurden, mithin die *Prodigiosus*-Wolke bei M bereits derartig in die Länge gezogen war, daß es mindestens einer Zeit von 20 Minuten bedurfte, bis sie die Entnahmestelle passiert hatte. Das negative Resultat bezüglich der übrigen Flaschen ist zweifellos nur als ein Beweis der bereits stattgehabten enormen Verdünnung aufzufassen. Diese Auffassung erhält noch eine gewisse Stütze dadurch, daß z. B. in dem Wasser aus Flasche 19 und 20 des zweiten Versuches nur auf denjenigen Platten *Prodigiosus*-Keime wuchsen, die mit 8 Tropfen des zu untersuchenden Wassers beschickt waren, während auf den mit nur 5 Tropfen beschickten Platten keine Keime wuchsen — eine Beobachtung, die schon darauf hinweist, mit welchen Zufälligkeiten man bei derartigen Untersuchungen bezüglich der Erlangung eines positiven Resultates im allgemeinen zu rechnen hat.

Versuch III, 16. Juni.

1) 9^h Einsetzen von 3 Schwimmflaschen bei W.

2) Nach $\frac{1}{2}$ Minute Ausgießen von 7 Litern *Prodigiosus*-Kultur in den Leinekanal.

3) 10^h 10' Schwimmflaschen bei M auf ca. 30 m in Sicht. Beginn mit Probeentnahmen in Zwischenräumen von 2 Minuten. Im ganzen 20 Flaschen. Letzte Entnahme 10^h 40'.

4) Untersuchung: Von jeder Flasche wurden angelegt:

a) Agarplattenkultur (8 Tropfen in Petri-Schalen).

b) Oberflächenausstrich von einem Tropfen Wasser auf Agarplatte. Im ganzen 40 Platten.

Resultat: Völlig negativ.

Versuch IV, 21. Juni.

1) 9^h 27' Einsetzen von 3 Schwimmflaschen bei W.

2) Nach $\frac{1}{2}$ Minute Ausgießen von 8 Litern *Prodigiosus*-Kultur in den Leinekanal.

3) 10^h 36' Schwimmflaschen bei M auf ca. 30 m in Sicht. Beginn mit Probeentnahmen in Zwischenräumen von 1—1½, Minuten. Im ganzen 20 Flaschen. Letzte Entnahme 11 Uhr.

4) Untersuchung: Von jeder Flasche werden zwei Agarplattenkulturen (jedesmal 8 Tropfen in Petri-Schalen) angelegt. Im ganzen 40 Platten.

Resultat: Nach 3 Tagen sind vereinzelte *Prodigiosus*-Kolonieen zu sehen auf den Platten von Flasche 2, 4, 7, 14, 17, 19.

Versuch V, 1. Juli.

Bei diesem Versuch wurde, um ein möglichst positives Resultat zu erhalten, als Ausgangspunkt nicht W genommen, sondern eine nur zirka 1½ km von der Maschmühle entfernt gelegene Brücke (B). Außerdem wurden die Probeentnahmen absichtlich sehr in die Länge gezogen.

1) 11^h 30' Einsetzen von 3 Schwimmflaschen bei B.

2) Nach ½ Minute Eingießen von 5 Litern *Prodigiosus*-Kultur in den Leinekanal ebendasselbst.

3) 12^h 55' Schwimmflaschen bei M auf ca. 30 m in Sicht. Beginn mit Probeentnahmen in Zwischenräumen von 5 Minuten. Im ganzen 25 Flaschen. Letzte Entnahme 2 Uhr 55 Minuten.

4) Untersuchung: Von jeder Flasche wird eine Agarplattenkultur (8 Tropfen) angelegt, im ganzen 25.

Resultat: Nach 2—3 Tagen zeigen sich Kolonieen auf den Platten von Flasche 2 (1), 5 (1), 6 (8), 7 (5), 8 (2), 9 (4), 10 (2), 11 (5), 12 (3), 13 (1), 14 (1), 15 (1), 19 (1), 20 (nur flächenhafter rötlicher Schimmer).

Von 20 wird, da das Resultat nicht ganz einwandfrei, Strichkultur auf Kartoffel (nach v. Es March) angelegt. Nach 24 Stunden deutliche *Prodigiosus*-Wucherung.

Dieser Versuch ist insofern lehrreich, als durch das fast lückenlos positive Resultat der Untersuchungen bis zur 20. Probeentnahme die Länge der *Prodigiosus*-Wolke bei M sich ganz genau abgrenzen läßt. Mit der 20. Probeentnahme werden die bis dahin positiven Resultate plötzlich negativ — ein unzweideutiger Beweis dafür, daß die Bacillenwolke M passiert hat. Da nun das erste positive Resultat auf 2, das letzte auf 20 fällt, die Probeentnahmen aber in Zwischenräumen von 5 Minuten stattgefunden haben, so bedurfte es demnach einer Zeit von 19×5 Minuten bis 1 Stunde 35 Minuten, bis die *Prodigiosus*-Wolke M in ihrer ganzen Länge passiert hatte. Allerdings ist dabei zu berücksichtigen, daß während dieses Versuches die Stromgeschwindigkeit im Leinekanal eine ungeheuer geringe (ca 0,1 m pro Sekunde) war infolge Aufstauens des Wassers bei M. Immerhin aber hatte die Bacillenwolke doch bereits eine Länge von ca. 570 m erreicht.

Um nun den Einfluß einer größeren Stromgeschwindigkeit auf die Bacillenwolke zu beobachten, stellte ich noch zwei Versuche auf der Strecke zwischen M und der sogen. Eselsbrücke (E), welche ca. 2¼ km unterhalb M über die Leine führt, an. (Der Leinekanal vereinigt sich gleich unterhalb M wieder mit der eigentlichen Leine, die hier außerdem auf dem Wege bis E noch einen Nebenfluß, die Grone, sowie die Abwässer der Stadt aufnimmt.) Nach Messungen mit dem Woltmannschen Flügel an verschiedenen Stellen beträgt die Stromgeschwindigkeit auf der genannten Strecke durchschnittlich ca. 0,85 m pro Sekunde. Die Bestimmung der Zeit, welche schwimmende Gegenstände von M bis E

brauchten, wurde dadurch erschwert, daß Schwimmflaschen auf dieser Strecke oft durch Schilf, herabhängendes Buschwerk u. s. w. auf- oder überhaupt festgehalten wurden. Es mußte deshalb der Zeitpunkt, wann mit der Probeentnahme zu beginnen sei, approximativ bestimmt und möglichst schon früher, als zu erwarten war, mit den Probeentnahmen begonnen werden.

Versuch VI, 7. Juli.

1) 11^h 55' Eingießen von 7 Litern *Prodigosus*-Kultur bei M in den Leinekanal.

2) 12^h 15' Beginn mit Probeentnahmen bei E in Zwischenräumen von ca. 3 Minuten. Im ganzen 42 Flaschen. Letzte Flasche 2 Uhr 10 Minuten.

3) Untersuchung: Von jeder Flasche eine Agarplattenkultur (8 Tropfen).

Resultat: Nach 2—3 Tagen sind positiv: 19, 20, 22, 23, 25, 26, 27, 28, 30, 33, 36, 40. (Durchweg 1—2 Keime auf jeder Platte.)

Versuch VII, 13. Juli.

1) 8^h 10' Eingießen von 5 Litern *Prodigosus*-Kultur bei M in den Leinekanal.

2) 8^h 15' Beginn mit Probeentnahmen bei E in Zwischenräumen von ca. 4—5 Minuten. Im ganzen 30 Flaschen. Letzte Flasche 11 Uhr.

3) Untersuchung: Wie beim vorigen Versuch, 30 Platten.

Resultat: Nach 2—3 Tagen sind positiv: 11 (1), 13 (1), 14 (1), 15 (1), 16 (1), 17 (1), 18 (1), 19 (3) (auf einer zweiten Platte derselben Wasserprobe kein Keim!) 21 (1), 22 (3), 23 (3), 26 (1), 27 (1), 29 (1).

Nehmen wir an, was noch nicht einmal als erwiesen angesehen zu werden braucht, daß bei Versuch VI die letzte positive Entnahme (40) das Ende der Bacillenwolke bedeute, so würde, da dieselbe bei der 19. Entnahme begonnen hatte, die Entnahmen aber in Zwischenräumen von 3 Minuten stattfanden, das Passieren der Wolke einen Zeitraum von ca. 21×3 Minuten = 1 Stunde 3 Minuten in Anspruch genommen haben und zwar — was besonders zu berücksichtigen ist — an einer Stelle (E), wo die Stromgeschwindigkeit der Leine ca. 0,8 m pro Sekunde beträgt, mithin eine ziemlich beträchtliche ist. Es hat demnach die Bacillenwolke beim Passieren von E bereits eine Länge von etwas über 2000 m erreicht.

Noch weiter ausgedehnt erscheint dieselbe, obgleich ursprünglich an Volumen um 2 Liter geringer, bei Versuch VII, wo das Passieren derselben bei E einen Zeitraum von 1 Stunde 20 Minuten in Anspruch nahm.

Es folgen nun noch 3 Versuche, welche ich im Kanalisationssystem selbst anstellte, indem ich die Bacillenkultur in das Wasserklosett des hygienischen Instituts goß und die Probeentnahme in der außerhalb der Stadt, und zwar in der Nähe von M gelegenen Abwässerreinigungsanlage machte. Vorversuche mit Korken hatten ergeben, daß dieselben bis zur Ankunft in der Reinigungsanlage ca. 1 Stunde 20 Minuten brauchten, falls sie durch eine genügende Menge Kanalwasser zuverlässig weiter befördert wurden. Gleichwohl wurde bei jedem Versuch eine Reihe von Korken als Stromgeschwindigkeitsanzeiger der Bacillenkultur vorausgeschickt.

Versuch VIII, 12. Juli.

1) 10^h 25' werden 10 Korke ins Wasserklosett geworfen und mehrere Male nachgespült.

2) 10^h 35' Eingießen von 6 l Prodigiosus-Kultur ins Klosett. Nachspülen.

3) 11^h 50' Beginn mit Probeentnahmen in Zwischenräumen von 4 Minuten, im ganzen 30 Flaschen. Korke sind überhaupt nicht angekommen.

4) Untersuchung: Aus jeder Flasche 0,5 ccm in 100 ccm sterilen Wassers nach vorherigem Schütteln der Flasche wegen starker Sedimentierung. Von dieser Verdünnung (1:200), die wegen des ungeheueren Reichtums des Kanalwassers an Bakterien notwendig war, 0,5 ccm auf eine Agarplatte, im ganzen also 30 Platten.

Resultat negativ.

Versuch IX, 20. Juli.

Da das negative Resultat des vorigen Versuches höchstwahrscheinlich auf eine, durch die anhaltende Hitze und Trockenheit bedingte Stagnation des Kanalwassers zurückzuführen war, so ließ ich vor Beginn dieses Versuches sämtliche Hähne der Wasserleitung im hygienischen Institut zuvor $\frac{1}{4}$ Stunde laufen und überzeugte mich sodann bei dem zunächst gelegenen Einsteigeschacht von dem sicheren Abfluß des Kanalwassers.

1) 10^h 5' werden 10 Korke ins Wasserklosett geworfen, mehrfaches Nachspülen.

2) 10^h 15' Eingießen von 6 l Prodigiosus-Kultur. Nachspülen.

3) 11^h 30' Ankunft mehrerer Korke. Beginn mit Probeentnahmen in Zwischenräumen von 4 Minuten, im ganzen 30 Flaschen.

4) Untersuchung wie beim vorigen Versuch.

Resultat:

Nach 2 Tagen auf allen Platten zahlreiche, bisher aber nicht charakteristische Keime. Von den Platten 1, 12 und 24 wird von verdächtigen Keimen Ausstrichpräparat auf Agar gemacht, um zu sehen, ob sich hier event. charakteristischer Farbstoff entwickelt.

Ergebnis negativ.

Nach weiteren 2 Tagen wird von den Platten 3, 4, 8, 9, 13, 18 und 23 von verdächtigen Keimen Kartoffelstrichkultur angelegt. Nach 24 Stunden deutliche Prodigiosus-Wucherung auf der Kartoffel von 8 und 9.

Nach weiteren 24 Stunden Rosafärbung auf der Kartoffel von den Platten 13, 18 und 23. Zur Feststellung, ob auch hier Prodigiosus (Involutionenform?) vorliegt, wird mikroskopische Untersuchung (Färbung mit Methylenblau) vorgenommen, wobei sich herausstellt, daß es sich nicht um Prodigiosus, sondern um feine Stäbchen von anderer Form handelt. (Untersuchung im hängenden Tropfen.)

Es sind also positiv nur 8 und 9.

Versuch X, 26. Juni.

Vor dem eigentlichen Versuch Laufenlassen sämtlicher Hähne der Wasserleitung im hygienischen Institut, $\frac{1}{2}$ Stunde lang.

1) 2^h 8' werden 10 Korke ins Spülklosett geworfen.

2) 2^h 18' Eingießen von 6 l Prodigiosus-Kultur.

3) 3^h 26' kommen in kurzer Entfernung voneinander sämtliche Korke an. Beginn mit Probenentnahmen in Zwischenräumen von 4 Minuten, im ganzen 25 Flaschen.

4) Untersuchung wie bisher.

Resultat: Nach 2 Tagen auf Platte 1 und 9 je ein Keim, auf Platte 19 dagegen 15 Keime.

Nach weiteren 24 Stunden sieht man auf Platte 2 an vier Stellen schwach rötlichen Schimmel, desgleichen bei Platte 4 an einer Stelle. Von diesen Stellen wird Reinkultur auf Kartoffel angelegt. Nach 24 Stunden zeigen sämtliche Strichkulturen typische *Prodigiosus*-Färbung. Es sind also positiv: 1, 2, 4, 9, 15 und 19.

Was ergeben nun alle diese Versuche? Zunächst bestätigen sie, daß in der Tat die Verdünnung, d. h. die Verteilung der Bakterien im fließenden Wasser schon nach kurzer Zeit eine ganz enorme ist und daß dementsprechend diesem Faktor bei der Selbstreinigung der Flüsse eine außerordentlich hohe Bedeutung zufallen muß. Dagegen scheint es fast, als spiele die Stromgeschwindigkeit als solche bei der Verteilung der Bakterien nicht eine so große Rolle, wie man annehmen sollte, denn auch auf der Strecke W—M, wo die Strömung von vornherein eine äußerst geringe war und im weiteren Verlaufe fast bis zur Stagnation herunterging, war die Verteilung gleichwohl eine außerordentlich weitgehende.

Des weiteren führen uns die Versuche so recht deutlich die große Unsicherheit vor Augen bezüglich des Nachweises einer besonderen Species von Bacillen in einem ohnehin an Bakterien reichen Wasser, eine Unsicherheit, die in der Regel selbst durch zahllose und minutiös ausgeführte Einzeluntersuchungen nicht aus der Welt zu schaffen sein wird. Abgesehen davon, daß so oft der Nährboden die in Wirklichkeit vielleicht vorhandenen Bacillenarten am Auskeimen hindert oder eine Ueberwucherung derselben durch andere, deren Nachweis irrelevant ist, stattgefunden hat, kommt auch von den zu untersuchenden Proben durchweg ein so minimaler Bruchteil zur Untersuchung, daß es mehr oder weniger Zufallssache ist, ob man die fraglichen Bacillen findet oder nicht. Wie sehr dies der Fall, beweist z. B. das negative Resultat beim Versuch III, und zwar um so mehr als die dabei angewandte Methode und Technik nicht im mindesten von derjenigen bei den übrigen Versuchen abwich. In dieser Unsicherheit des Nachweises einer besonderen Species von Bacillen in fließenden Gewässern liegt natürlich die dringende Mahnung, bei etwaigen Untersuchungen in konkreten Fällen niemals aus negativen Resultaten irgend welche Schlüsse auf das Vorhandensein oder Nichtvorhandensein einer bestimmten Bacillenart zu ziehen. Hier können immer nur positive Resultate als maßgebend angesehen werden. Wenn es uns auch gelang, diese bei fast allen Versuchen zu erzielen, so darf doch andererseits nicht vergessen werden, daß hier zwei Faktoren, auf die man in praxi nicht rechnen kann, eine wichtige Rolle spielten: einmal die — absichtlich so gewählte — ungeheure Menge von Bacillen der betreffenden Species, durch welche der Nachweis derselben selbst in einer verhältnismäßig kleinen Menge der Untersuchungsflüssigkeit immer noch mit ziemlicher Sicherheit gewährleistet wurde; sodann die Bestimmbarkeit von Ort und Zeit, wo bzw. wann die betreffenden Bacillen in dem zu untersuchenden Wasser voraussichtlich sich aufhalten und nachweisbar sein mußten. Wie aber, wenn es gilt, eine bestimmte Species von Bacillen nachzuweisen, deren Menge im Verhältnis zur Wasserführung des betreffenden Flusses und zu der Zahl der sonst vor-

handenen Bacillen vielleicht verschwindend klein, deshalb aber doch völlig ausreichend sein kann, um bei entsprechender Virulenz eine größere Anzahl von Erkrankungsfällen hervorzurufen? Natürlich wird man die Untersuchungen in ganz anderem Umfange vornehmen, als dies bei unseren Versuchen geschehen ist und dadurch die Chancen für den Nachweis wesentlich heben. Aber gesetzt den Fall, es handele sich um eine durch eine Bazillenwolke hervorgerufene Epidemie: wird man die Probenentnahmen zur Untersuchung auf die verdächtige Species auch zur richtigen Zeit und an der richtigen Stelle vornehmen, wie wir es tun konnten, weil wir in dieser Beziehung von vornherein mit bekannten Größen rechnen konnten? Es leuchtet ohne weiteres ein, daß in solchen Fällen die bakteriologische Untersuchung fast stets zur unrechten Zeit, d. h. viel zu spät, vorgenommen werden wird, denn bis zum Ausbruch einer Epidemie, die doch erst zu einer Untersuchung Anlaß geben würde, wäre die fragliche Bacillenwolke längst verschwunden und, da eine Vermehrung derselben im fließenden Wasser mit Sicherheit auszuschließen ist, ihr Nachweis mit jedem Tage schwieriger.

Bezüglich der letzten drei Versuche, welche in der Kanalisation angestellt wurden, ist als wesentliches Moment hervorzuheben, daß der Nachweis der Bacillen ganz offensichtlich um so leichter gelang, je besser die Durchspülung der Kanäle und damit die Weiterbeförderung der Bacillenkultur war. Es bestätigen also die Versuche aufs neue die Notwendigkeit einer reichlichen und regelmäßigen Durchspülung jeder Kanalisation. Denn Zweck dieser ist es nicht, einen Aufenthaltsort für schädliche Substanzen zu bilden, sondern letztere auf dem kürzesten und schnellsten Wege der Vorflut zu übergeben, die allein eine Unschädlichmachung durch die verschiedenen Faktoren der Selbstreinigung gewährleistet.

Allerdings kann unter Umständen auch das Sielwasser — und dann vielleicht schneller und sicherer als die Vorflut — im stande sein, virulente Bacillen unschädlich zu machen, dann nämlich, wenn zufällig Stoffe — z. B. chemische — in demselben enthalten sind, welche die Lebensenergie der betreffenden Bacillen herabsetzen oder gar vernichten. Diesen Zufällen steht aber die mindestens ebenso hoch anzuschlagende Möglichkeit einer Vermehrung der Bacillen durch Nährstoffe, welche in dem Sielwasser enthalten sein können, entgegen.

Am Schlusse meiner Arbeit ist es mir ein Bedürfnis, Herrn Prof. v. Esmarch für die Anregung zu derselben, sowie für manchen freundlichen Ratschlag meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Literatur.

- 1) Neseemann, Ueber Ausbreitungswege des Unterleibstypus in ländlichen und großstädtischen Verhältnissen. (Vierteljahrsschrift f. gerichtliche Med. 1905. Heft 1.)
- 2) Fiedler, Ueber das Verhalten des Typhus abdom. in Dresden in den letztvergangenen 34 Jahren etc. Vortrag.
- 3) Lotz, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XLI. 1902.
- 4) Rubner, Archiv f. Hygiene. Bd. XI. Heft 4.
- 5) Buchner, Centralbl. f. Bakteriologie. Bd. XI. 1892.
- 6) —, Archiv f. Hygiene. Jubil.-Bd. XVII.
- 7) Kotljars, Zur Frage über den Einfluß des Lichtes auf Bakterien. (Wratsch. 1892. No. 30 und 40.)
- 8) Dieudonné, Beiträge zur Beurteilung der Einwirkung des Lichtes auf Bakterien. (Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. IX.)
- 9) Mutschler, Das Aarwasser bei Bern. Ein Beitrag zur Selbstreinigung der Flüsse. (Hygienische Rundschau. Bd. VII.)

- 10) Rubner, Das städtische Siewasser und seine Beziehungen zur Flußverunreinigung. (Archiv f. Hygiene. Bd. XLVI.)
- 11) Dupré, Ueber die chemische und bakteriol. Prüfung des H₂O, mit Bemerkungen über die Typhusepidemie in Worthing im Jahre 1893. (Hyg. Rundschau. Bd. V.)
- 12) Lunt, Transactions of the Brit. instit. of present med. I series, London 1897.
- 13) Tager, Dissert. Dorpat 1893.
- 14) Scheurlen, Archiv f. Hygiene. Bd. XXVI.
- 15) v. Drigalski, Centralbl. f. Bakteriologie. Bd. XXXV. No. 6.
- 16) Deutsch, Die Uebertragung ansteckender Krankheiten durch Badeanstalten. (Vierteljahrsschrift f. gerichtl. Medizin. 1905. Heft 2.)
- 17) Berthin-Lans, Traité d'Hygiène. Bd. I.
- 18) Gessard, Sur la fonction fluorescigène des microbes (Annales de l'Institut Pasteur. 1892.)
- 19) Dahmen, Die bakteriol. Wasseruntersuchung. (Chem.-Zeitung. Bd. XVI.)
- 20) Schottelius, Biologische Untersuchungen über den Micrococcus prodig. (Festschrift für Albert v. Kölliker, Leipzig 1887.)

Nachdruck verboten.

Studien zur Frage der Leguminosenknöllchen.

Von Josef Štefan, Gymnasiallehrer in Písek (Böhmen).

Mit 2 Textfiguren und 2 Tafeln.

Seitdem die Frage über die Luftstickstoffassimilation der Leguminosen von Hellriegel und Prażmowski (6) beantwortet wurde, ist über die Details des Gegenstandes eine große Reihe von Abhandlungen veröffentlicht worden.

Die ganze Entwicklungsgeschichte unserer Kenntnisse auf diesem Gebiete zu schildern, halte ich für überflüssig, weil dieselbe schon in den Arbeiten von Beijerinck (3), M. Dawson (5), Hiltner (12), J. Vogel (14) enthalten ist.

In den letzten Jahrzehnten wird jedoch die Aufmerksamkeit der Forscher meist nur dem bakteriologisch-physiologischen Teile der Frage gewidmet. In Betreff der Anatomie und Cytologie der Leguminosenknöllchen begnügt man sich mit wenigen Ausnahmen damit, nur die älteren Angaben zu zitieren, als ob die letzteren ganz vollständig und allseitig verlässlich wären. Diese Erscheinung hängt offenbar mit dem Umstande zusammen, daß die Mehrzahl von den einschlägigen neueren Arbeiten durch die Nitraginfrage veranlaßt wurde. Die Mißerfolge der Nitraginfabrikation führten zum gründlichen Studium der Infektionsbedingungen, der Virulenz, Bedingungen der Luftstickstoffassimilation etc.

Es läßt sich gar nicht leugnen, daß diese Richtung wichtige Erfolge aufzuweisen hat; zur Vollständigkeit unserer Kenntnisse ist jedoch auch die Berücksichtigung übriger Partien notwendig.

Die in folgenden Zeilen zusammengebrachten Beobachtungen gehören zum größten Teil in das Gebiet der Knöllchenanatomie. Dieselben wurden im Laufe der letzten drei Jahre gesammelt. Ich beabsichtigte zuerst, nur die Knöllchen der Mimosacee *Enterolobium Thimboua* (Hort.) näher zu studieren, wozu ich von meinem hochgeehrten Lehrer, Prof. Dr. B. Němec, aufgefordert worden war.

Um Vergleichmaterial zu gewinnen, erweiterte ich später meine Untersuchung auf die Mehrzahl unserer wirtschaftlich wichtigen Hülsenfrüchte. Zu diesem Zwecke haben sich, trotz ihrer geringen Dimen-

sionen, die Knöllchen von *Trifolium pratense* und *Trifolium pannonicum* besonders vorteilhaft erwiesen. Außerdem wurden die Knöllchen von *Pisum sativum*, *Phaseolus vulgaris*, *Lupinus perennis*, *Melilotus officinalis*, *Medicago sativa*, *Anthyllis vulneraria*, *Onobrychis viciaefolia*, *Galega officinalis* studiert.

Die dazu nötigen Arbeiten fanden teils in dem pflanzenphysiologischen Institute der k. k. böhmischen K. F. Universität Prag, teils im botanischen Institute der königl. böhm. landw. Akademie zu Tábor statt. Den Herren Direktoren der genannten Institute (Prof. Dr. Němec und Prof. Dr. Bubák) spreche ich für ihre gütige Erlaubnis zur Arbeit, sowie für die freundliche Unterstützung meinen verbindlichsten Dank aus.

I.

Die Entstehung von Leguminosenknöllchen hängt bekanntlich in erster Reihe von der Anwesenheit der betreffenden Mikroorganismen ab (Mangel an Knöllchen bei Soja, *Desmodium gyrans*, *Phaseolus* — wenn diese auf Böden angebaut werden, wo sie nie vorher gewachsen sind).

Die Anzahl, Form und Verteilung der Knöllchen am Wurzelkomplexe der Pflanze sind jedoch im allgemeinen für jede Leguminose eigentümlich. Man sieht hier deutlich, daß bei gleichem äußeren Reize die Reaktion bei verschiedenen Pflanzen zwar ähnlich, aber nicht gleich ausfällt. Die Entwicklungsart der Knöllchen ist Funktion der Bakterienwirkung und der Gegenwirkung der Pflanze.

Was die Knöllchenzahl betrifft, kann dieselbe auch bei einer und derselben Leguminosenart einigermaßen schwanken. Z. B. an den Rotkleewurzeln findet man zur Fruchtzeit oft faßt keine Knöllchen — obschon sonst gerade der Rotklee in seinen übrigen Vegetationsperioden eine überaus bedeutende Menge von Knöllchen aufzuweisen pflegt. Dieser Umstand, daß während oder vor der Fruchtzeit die meisten Knöllchen zu Grunde gehen, wurde früher (Brunchorst 1885) als „Entleeren“ der Knöllchen von seiten der Wirtspflanze bezeichnet, welche letztere den Stickstoff der Bakteroiden für ihre Samen verbraucht. Daran ist zuerst der Ausdruck „entleeren“ verfehlt, weil nur ausnahmsweise wirkliche Entleerung der Knöllchen stattfindet, wenn sie nämlich von Insektenlarven oder sonstigen tierischen Parasiten heimgesucht werden.

In Betreff der Knöllchendegeneration ist es zwar außer allen Zweifel gestellt, daß gewisse stickstoffhaltige Lösungen aus den Knöllchen in die oberirdischen Teile der Pflanze — insbesondere in die Früchte — gelangen müssen, aber dieser Vorgang darf nicht als die Ursache der Knöllchendegeneration erklärt werden, denn ähnliche Stoffwanderungen kommen auch in normalen Wurzeln vor. Vielmehr macht sich hier die Virulenz der Produkte der Parasiten geltend. Dieser Gegenstand wird in den weiteren Abschnitten der Arbeit näher behandelt.

Die Lage der Knöllchen variiert nach den Typen. Bei der Lupine sind die Knöllchen unregelmäßig warzenförmig und wachsen nur aus den stärkeren Wurzeln hervor, ja die größten gehören gerade der Hauptwurzel an, welche jedoch gar nicht ausschließlich solche trägt. Ja es muß hervorgehoben werden, daß bei der Lupine — im Gegensatz zu den übrigen einheimischen Leguminosen — auch am stärksten Teile der Hauptwurzel fast immer kleine, junge Knöllchen anzutreffen sind. Die letzteren stellen schmale niedrige Wülste vor, die am Rande von

Wurzellenticellen gelegen sind und die Wurzel oft fast halbkreisförmig umfassen.

Von den übrigen Knöllchenformen gilt die allgemeine Regel, daß sie jungen Nebenwurzeln seitlich ansitzen. Eine scheinbare Ausnahme von der Regel bilden die Knöllchen, welche nach Beijerinck (3) und anderen in der Achsel von kleinen Nebenwurzeln an der Hauptwurzel sitzen. Beijerinck fügt jedoch hinzu, daß sich das Knöllchen später als das Würzelchen entwickelt. Die Sache macht in der Tat bei äußerer Beobachtung den Eindruck, als ob das Knöllchen und Würzelchen nur stark aneinander genäherte, sonst jedoch unabhängige Seitensprosse der Hauptwurzel vorstellten.

Pflückt man jedoch das Würzelchen vorsichtig ab, so trennt sich auch das Knöllchen mit. Noch besser überzeugt man sich von den tatsächlichen Verhältnissen durch Beobachtung eines zweckmäßig geführten Schnittes. (Textfig. 1.)

Auch im extremen Falle zweigen sich die Gefäßbündel des Knöllchens von denjenigen des Würzelchens ab. Nicht selten stirbt jedoch das Würzelchen ab und verfault nach einiger Zeit bis zum Anknüpfungspunkte des Knöllchens. Dann sieht allerdings das Knöllchen als der Hauptwurzel direkt ansitzend aus.

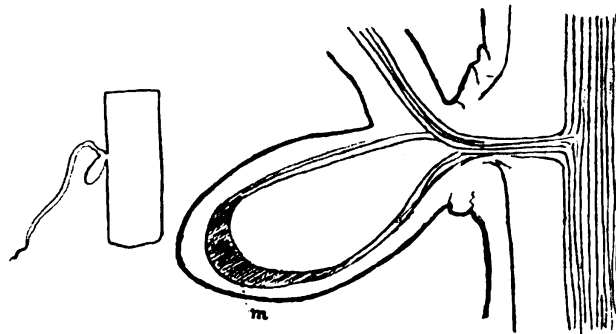


Fig. 1. Ein Wurzelstückchen mit einem scheinbar achselständigen Knöllchen. Rechts der Längsschnitt vergrößert und schemat. (*m* Meristem.)

Die eben besprochene Lage der Knöllchen ist durch die Art der Infektion bedingt, die bei den zwei Haupttypen von Knöllchen verschieden ist (vergl. unten).

Beobachtet man die Form von Leguminosenknöllchen, so repräsentiert die Lupine wieder einen selbständigen Typus (Lupinen-Typus nach Tschirch), welcher durch unregelmäßige, den stärkeren Wurzeln breit angewachsene Knöllchen gekennzeichnet wird. Die Knöllchen sämtlicher übrigen Leguminosen faßt Tschirch als Robinia-Typus zusammen, die letzteren haben das Gemeinsame, daß sie dünneren Wurzeln mit enger Fläche ansitzen, bezw. durch eine Art Hals damit verbunden sind. Bei dem letzteren Typus unterscheidet Tschirch weiter längliche Knöllchen von mehrjährigen Pflanzen, (Robinia, Trifolien) und rundliche Knöllchen von einjährigen Leguminosen (Phaseolus).

Ganz richtig behandelt Tschirch die äußere Form gleichzeitig mit der inneren Anatomie der Knöllchen, auch erklärt er die erstere aus der letzteren. Entscheidend ist dabei die Lage des Meristems, welches die Vergrößerung von jungen Knöllchen verursacht.

Bei den länglichen Knöllchen bildet das Meristem eine terminale Kappe, welche am Längsschnitt halbmondförmig erscheint. Nach längerer Tätigkeit des Meristems wird das Knöllchen natürlich eine keulenförmige Gestalt annehmen, welche in der Tat beim Klee u. a. vorkommt.

Die Entwicklung von rundlichen Knöllchen erklärt Tschirch dadurch, daß sich in diesem Falle kein eigentliches Meristem bildet, sondern der Zuwachs des ganzen Knöllchens sehr rasch durch allseitige Zellenvermehrung vor sich geht. Das Knöllchen ist sozusagen auf einmal fertig — aber ebenso wird es auf einmal „entleert“. Bei den langen Knöllchen beginnt die Degeneration von hinten aus, wobei der vordere Teil mit dem Meristem noch lange lebendig bleibt. Der Inhalt von runden Knöllchen degeneriert dagegen gleichmäßig und schnell. Irrtümlich zählt Tschirch hierher nur die einjährigen Leguminosen, weil die denkbar regelmäßigsten kugelförmigen Knöllchen bei *Anthyllis vulneraria*, also einer Staude, vorkommen.

Bei manchen Leguminosen begegnet man reichlich verästelten Knöllchen, welche zu den einfachen, je nach der Pflanze, in verschiedenen Zahlverhältnissen stehen. Bei den Erbsen sind die Knöllchen manchmal ausschließlich nur einfach, in anderen Fällen kann die Erbse außerdem einige walnußgroße, reichlich verästelte Knöllchen tragen, welche an die Erlenknöllchen erinnern. Bei *Onobrychis*, *Galega* sind gewöhnlich alle Knöllchen verästelt; *Medicago sativa* weist gleiche Menge einfacher und verästelter Knöllchen auf, beim Klee überwiegt die Anzahl der einfachen.

Die Verästelung der Knöllchen wird durch Spaltung des üppig wachsenden Meristems verursacht. Im allgemeinen tritt die Verästelung nur dort auf, wo die Bedingungen zu einem besonders üppigen Wuchs der Knöllchen gegeben sind. Die stets verästelten *Esparsette*-Knöllchen sind stark und groß; die kleinen KleeKnöllchen sind fast immer einfach. Die regelmäßig runden Knöllchen von *Anthyllis* und *Seradella* habe ich nie verästelt gefunden, ebenso diejenigen von *Phaseolus*, was mit Tschirchs Erklärung ihrer Entwicklung ganz vorzüglich übereinstimmt.

Eine Homologie zu den Leguminosenknöllchen, wie in Betreff der inneren, so auch der äußeren Morphologie, bilden die Knöllchen einheimischer Orchideen. Es sind das auch Wurzelknöllchen mit mehreren Gefäßbündeln, sie können sich auch verästeln, man hält sie daher für zusammengewachsene Wurzelgruppen. Sie werden, den neueren Untersuchungen nach ¹⁾ durch pilzliche Parasiten verursacht und doch sind sie für das Erhalten der Pflanze wichtig. Dieselbe Deutung wurde auch für die Leguminosenknöllchen schon 1888 von Beijerinck ausgesprochen. (3.)

Das Knöllchen wird durch rasche Vermehrung der Zellen des Rindenparenchyms angelegt — vielleicht mit Ausnahme von *Lupinus*, wo die Entwicklung vom Grundparenchym zwischen der Endodermis und den Gefäßbündeln ausgehen soll (Tschirch [2]). An der Peripherie des neugebildeten Knöllchens bilden sich dann auch Gefäßbündel, welche von einem kurzen Stamme ausgehend, sich in der Richtung zur Spitze des Knöllchens in mehrere Aeste verzweigen.

1) Nach Bonnier, Cours de botanique. T. I. Fasc. II.

Den Knöllchen von *Anthyllis vulneraria* verleihen die an der Oberfläche verlaufenden Gefäßbündel ein sehr zierliches Aussehen. Die Knöllchen sind hier regelmäßig kugelförmig, im frischen Zustande gelb, in Degeneration begriffen grünlich gefärbt und die Gefäßbündel stellen daran weiße Meridiankreise vor.

Interessant ist die Verschiebung der Infektionsstelle im Laufe der Entwicklung des Knöllchens. Zerlegt man vorsichtig mehrere Kleeknöllchen in dünne Schnitte, so fällt bei deren Beobachtung auf, daß ein starker Infektionsfaden aus dem Knöllchen hinten oder seitlich durch die Rindenschicht hindurch austritt. Ich habe die Erscheinung zuerst für eine Einrichtung zum Erhalten des *Bacillus radicolica* gehalten, welcher hierdurch der aussaugenden Kraft der Pflanze zu entgehen sucht. Verfolgt man jedoch den Faden auf seinem Laufe in das Bakteroidenparenchym zurück, so sieht man, daß sämtliche Infektionsfäden des Knöllchens von jenem direkt oder indirekt sich abzweigen. Außerdem läßt sich im günstigen Falle bei der Untersuchung eines jungen Knöllchens, das an seiner Oberfläche noch Wurzelhaare trägt, auch der Verlauf des „Stammfadens“ bis in ein Wurzelhaar verfolgen. Mir gelang das letztere bei zwei Erbsenknöllchen, einen der betreffenden Schnitte habe ich in Glycerin-Vesuvium konserviert.

Es handelt sich dabei also entschieden um die Infektionsstelle, welche selbstverständlich nur dort erkennbar ist, wo sich die Infektions-

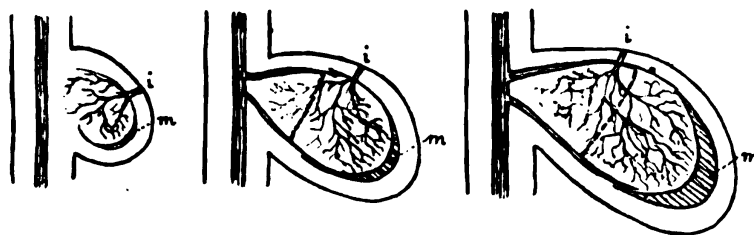


Fig. 2. Schematische Darstellung der Längsschnitte von 3 Entwicklungsstadien der Kleeknöllchen. (*i* Infektionspunkt, *m* Meristem, die strichlierte Linie stellt Grenze zwischen dem lebendigen und dem absterbenden Bakteroidengewebe vor.)

fäden durch besondere Dauerhaftigkeit auszeichnen, was gerade beim Rotklee und Erbse der Fall ist. Die Verschiebung der Infektionsstelle nach hinten wird durch die geotropische Stellung des Meristems verursacht. Die dem eindringenden Faden nächst benachbarten Zellen werden nämlich in ihrer Entwicklung gehindert, indem die weiter unten gelegenen in rasche Teilung gelangen und das oben besprochene Meristem vorstellen (Textfig. 2).

II.

Zur Beobachtung der cytologischen Verhältnisse habe ich fast ausschließlich nur frisches Material benutzt. Die aus freier Hand gefertigten Schnitte wurden mit Glycerin-Vesuvium gefärbt. Auch bei den mit Chrom-Osmium-Essigsäure fixierten Knöllchen erwies sich als vorteilhaft, dieselben von freier Hand zu schneiden und dann mit Glycerin-Vesuvium zu färben. Wird dieses Farbe- und zugleich Konservierungsmittel in geeigneter Konzentration gewählt, dann werden die Kerne und Zellwände schwächer braun — aber deutlich — die Infektionsfäden intensiv braun gefärbt, wobei die feine Struktur des Schnittes nur



sehr wenig geändert wird, wenn man das Färbemittel vorsichtig dem den Schnitt einschließenden Wassertröpfchen zugibt. Ich habe zuletzt folgende, sehr bequeme Modifikation des erwähnten Präparationsverfahrens benutzt:

Die Schnitte wurden in ein sehr kleines Wassertröpfchen gelegt: dazu wurde wenig Jodjodkalium zugegeben, dann die Schnitte mit Wasser gründlich abgespült, um das Jodjodkalium zu beseitigen. Das wieder in reinem Wasser sich befindende Präparat könnte dann zugedeckt und gleich beobachtet werden. Durch Einwirkung von Jodjodkalium treten die Umrisse der Kerne, der Bakteroiden deutlicher hervor, die Stärkekörner färben sich blau.

Noch deutlicher werden jedoch alle Bestandteile des Präparates — insbesondere die Infektionsfäden — wenn man dem angewaschenen Schnitt Glycerinlösung des Vesuvins zusetzt. Wurde das Präparat bereits zugedeckt, so genügt es an den Rand des Deckgläschens ein Tröpfchen von Glycerin-Vesuvium zu setzen, das sich mit dem Wasser langsam vermengt. Sollte die Färbung zu stark sein, so wird auf ähnliche Weise reines Glycerin zugesetzt.

Die Jodjodkaliumfärbung kann unter Umständen ausgelassen oder durch Methylengrün-Essigsäure vertreten werden. Für Dauerpräparate sind diese beiden Färbungsarten aus bekannten Gründen nutzlos. Beabsichtigt man die Schnitte als Dauerpräparate zu konservieren, so muß alles Wasser beseitigt und durch Glycerin-Vesuvium ersetzt werden. Reines Glycerin kann nicht verwendet werden, weil dadurch der Schnitt allmählich entfärbt würde, es genügt jedoch eine sehr verdünnte Vesuviumlösung. Das Präparat kann mit Kanadabalsam verschlossen werden, wobei dieselben Maßregeln zu befolgen sind, wie bei Glycerinpräparaten überhaupt.

Die so verfertigten Präparate gewähren — ungeachtet einer bequemen Verfertigung — auch den Vorteil, daß sie vorzüglich klar, durchsichtig und dabei doch in allen Teilen gefärbt sind. Nach einem Jahre sind sie sehr gut brauchbar, mehr kann ich über ihre Dauerhaftigkeit nicht behaupten, weil ich keine älteren Präparate dieser Art besitze.

Falls Serienschnitte nötig waren, dann benutzte ich Flemming'sche Fixierungsflüssigkeit und Safranin-Gentianaviolett-Färbung — die letztere entweder direkt oder ging die Beizung der Schnitte mit Tanninlösung voraus. Dabei waren die Kerne sehr schön gefärbt, die älteren Bakteroiden jedoch und insbesondere die Infektionsfäden sehr undeutlich, mit Ausnahme ihrer Anschwellungen, welche eine karminrote Färbung bekamen. Ich kann Pierce (11) nicht zustimmen, daß diese oder ähnliche Präparations- und Färbungsmethoden so sehr vorteilhaft wären, wie er es behauptet. Man läuft dabei leicht Gefahr, die kleinen Körperchen, welche im Inneren der Bakteroiden enthalten sind und mit Gentianaviolett sich färben, für Bakterien zu halten, indem die eigentlichen Umrisse besonders der älteren Bakteroiden ohne gute Immersion unsichtbar sind.

Verteilung der Stärke.

In dieser Hinsicht verhalten sich die Knöllchen im wesentlichen so wie die normalen Wurzeln, d. h. in der Ruheperiode (Herbst, Winter) ist die Stärke sehr reichlich vorhanden und zwar sind die Stärkescheiden der Vasalstränge ihr Hauptsitz. Aber auch im zentralen Parenchym gibt es Zellen, welche mit Stärkekörnern ausgefüllt sind, und entweder

mit den Bakteroidenzellen (die auch selbst wenige Stärkekörner führen können) fast gleichmäßig vermengt oder nur auf eine bestimmte Partie begrenzt sind.

Den ersten Fall findet man z. B. bei *Melilotus officinalis*. Die Knöllchen sind hier breit keulenförmig, gewöhnlich einfach, und ihr innerer parenchymatischer Teil besteht aus großen Zellen, welche mit länglichen Bakteroiden vollgestopft sind, in deren Mitte sich ein lappenförmiger Kernrest befindet. Die verhältnismäßig schmalen Lücken zwischen diesen Bakteroidenzellen sind mit kleineren stärkeführenden Zellen erfüllt, in denen die Bakteroiden vollständig zu fehlen scheinen.

Den zweiten Fall nimmt man bei *Trifolium pratense*, *pannonicum* u. a. wahr, wenn ihre Knöllchen im Sommer geschnitten werden. Das innere Parenchym eines erwachsenen KleeKnöllchens zeigt am Längsschnitt drei ziemlich scharf getrennte Zonen: 1) Die jüngste, dem Meristem anliegende Zone besteht aus kleinen Zellen mit großen Kernen und reichlichen Infektionsfäden. Dagegen fehlt die Stärke und die Bakteroiden. 2) Die mittlere Zone, welche den breitesten Teil des Knöllchens einnimmt und dieselbe Zusammensetzung aufweist, wie das Bakteroidenparenchym bei *Melilotus* (Bakteroiden- und Stärkezellen). Diese Zone scheint der eigentliche Focus der Stickstoffassimilation zu sein. 3) Die dritte Zone stellt nur den äußeren degenerierten Teil der zweiten Zone vor und zeichnet sich schon makroskopisch durch grünliche Färbung und zusammengeschrumpfte Oberfläche aus. Die grünliche Farbe kommt dadurch zu stande, daß zahlreiche Zellen dieser Partie mit grüner Flüssigkeit ausgefüllt sind. Andere Zellen enthalten einen körnigen, mehr oder minder lichtbrechenden Stoff, welcher sich mit Vesuvium intensiv färbt und ein Degenerationsprodukt der Bakteroidenmassen vorstellt.

Es versteht sich von selbst, daß die eben geschilderten zwei Modifikationen der Stärkeverteilung extreme Fälle sind, zwischen welchen es viele Uebergangsstufen geben wird. Beim Klee selbst ist die Begrenzung einzelner Zonen im Herbst und Winter gar nicht so scharf wie im Sommer, besonders sind die Parenchymschichten, welche in der Nähe der Gefäßbündel nahe liegen, im Winter reich an Stärke, die ihnen im Sommer fehlt.

Merkwürdig ist das Verhalten der *Galega*-Knöllchen. Das ganze Wurzelsystem dieser Pflanze ist durch ungeheure Stärkemengen ausgezeichnet — und was dabei am meisten überraschen muß — die Wurzelknöllchen bilden in dieser Hinsicht keine Ausnahme. Alle Zellen (die Rindenschicht und Vasalstränge ausgenommen) derselben sind mit Stärke derart vollgestopft, daß es mir unmöglich war (im Sommer ebensogut wie im Winter), irgend welche Spur vom infizierenden Mikroorganismus zu finden. Die mir zur Verfügung stehenden *Galega*-Pflanzen trugen zwar wenige, aber dafür große und verästelte Knöllchen von beinahe korallenförmiger Gestalt.

Diese physiologische Tatsache gesellt sich zu den Resultaten der anatomisch-morphologischen Untersuchung der Knöllchen als ein Kriterium des morphologischen Wertes der letzteren. Es sind abnormale Wurzelbündel, die eventuell als Reserveorgane dienen; die Bewegung der Nähr- bez. Reservestoffe wird in den Knöllchen wahrscheinlich ebenso stattfinden wie in der Wurzel, die in den Knöllchen entstehenden stickstoffhaltigen Assimilate gelangen auf dieselbe Weise in die oberirdischen Teile der Pflanze wie aus den normalen Wurzeln. Es ist nicht



berechtigt, diese Stickstoffwanderung für die Ursache der Degeneration von Knöllchenzellen zu halten.

Mangel an Wurzelhaube und Wurzelhaaren bildet keinen wesentlichen Unterschied gegen die Wurzeln, indem er mit dem abnormalen Wuchs des Knöllchens, sowie mit der Anpassung zu abweichendem Zwecke zusammenhängt.

Der infizierende Organismus.

In den meisten Fällen gelangt der Mikroorganismus, dessen Anwesenheit die Knöllchenbildung bedingt, vermittelt des Wurzelhaares in die Wurzel. Daraus folgt, daß man die jungen Knöllchen in der Regel nur an jüngeren Wurzeln antreffen wird, was auch mit wenigen Ausnahmen der Fall ist. Die Art und Weise, wie die Infektion zu stande kommt, ist schon mehrmals (z. B. von Prażmowski 1889, Pierce 1903 [11]) beschrieben worden. Von einem am Wurzelhaare haftenden Bakterienhaufen aus dringt ein hyphenartiger Gallertfaden in das Wurzelhaar und dann weiter in das Rindenparenchym hinein. Der Faden besitzt bereits im Wurzelhaare dieselben Eigenschaften, wie seine Aeste, welche man im Bakteroidenparenchym antrifft: er färbt sich stark mit Vesuvin, in seinem Inneren lassen sich, besonders nach der Einwirkung von Jodjodkalium, bakterienartige Körperchen beobachten. Auch seine Oberfläche ist mitunter stark höckerig (Taf. I, Fig. 3).

Schon in der Rinde oder an der Grenze zwischen derselben und der Anlage des Bakteroidenparenchyms teilt sich der Faden in mehrere Aeste, welche in allen Richtungen das Bakteroidenparenchym durchziehen.

Das Bakteroidenparenchym — der Hauptbestandteil des Knöllchens — entsteht aus dem Rindenparenchym der infizierten Wurzel durch rasche Teilung seiner Zellen. Durchschneidet man die junge Anlage des Knöllchens und färbt den Schnitt mit Jodjodkalium, so ist die gelbe Färbung der kleinzelligen Partie, welche das junge Bakteroidenparenchym vorstellt, weit stärker und dauerhafter als diejenige der Rindenzellen. Der Infektionsfaden fehlt bei den *Lupinus*-Arten, nach Brunchorst (1) auch bei *Phaseolus multiflorus* (!), *Podalyria*, *Macherium firmum*, *Inga ferruginea*, *Desmodium canadense*; nach M. Dawson (5) bei *Flemmingia semialata*, *Adenocarpus decorticans*, *Edwardsia* sp., *Psoralea* sp.

Die Knöllchen von *Lupinus* unterscheiden sich von denjenigen der übrigen einheimischen Leguminosen durch ihre Gestalt (warzenförmig), Lage (an den dicken Wurzeln), aber auch durch weit kleinere Zellen des Bakteroidenparenchyms, deren Wände auch dünner sind als anderswo. Auffallend ist die Gestalt der Bakteroiden, welche dünner, aber reichlicher verästelt sind als bei anderen Leguminosen (Taf. II, Fig. 4). Infektionsfäden fehlen vollständig, selbst bei den jüngsten Knöllchen ist keine Spur davon zu finden¹⁾. Die Knöllchen entwickeln sich bei der Lupine sicher ohne Hilfe der Wurzelhaare und ihre Lage an den Wurzellenticellen macht es wahrscheinlich, daß das lockere Gewebe der letzteren die Bakterien nach innen durchläßt.

Bewunderungswert ist, daß man lange Zeit hindurch auch bei *Phaseolus* keine Infektionsfäden finden konnte, erst Laurent¹⁾ hat ihre Anwesenheit festgestellt. Auch M. Dawson (5) suchte darnach

1) Nach M. Dawson (5) soll Laurent (1891) bei der Lupine sowie bei *Phaseolus* in jungen Knöllchen Infektionsfäden aufgefunden haben.

lange vergeblich, erst im Frühling 1899 gelang es ihr, dieselben im Bakteroiden- und Rindenparenchym der jungen Knöllchen zu entdecken. Ich bin so glücklich gewesen, schon bei der ersten Untersuchung der *Phaseolus*-Knöllchen ihre Infektionsfäden in ebensolcher Menge wie bei den übrigen Leguminosen gefunden zu haben.

Freilich waren die von mir untersuchten Knöllchen auch jung; ich bediente mich nämlich immer zuerst junger Knöllchen bei der Untersuchung, weil nur in solchen die ursprüngliche Gestalt des Infektionsfadens, sein Verhältnis zu dem Zelleninhalte, und die cytologischen Verhältnisse überhaupt sich beobachten lassen. Die großen, zur definitiven Größe gelangten Knöllchen sind immer mindestens teilweise degeneriert.

Die Fäden von *Phaseolus vulgaris* weisen keinen auffallenden Unterschied gegen diejenigen anderer Leguminosen auf, bis vielleicht auf den Umstand, daß sie ein wenig schwächer sind.

Für die Infektionsfäden überhaupt ist hervorzuheben, daß ihre Dauerhaftigkeit je nach der Pflanze sehr beträchtlich schwankt. Sofern ich nach meinen Erfahrungen urteilen kann, sind von unseren Leguminosen bei den Kleearten die Fäden am meisten dauerhaft. Sie lassen sich in allen Partien des Bakteroidengewebes verfolgen, selbst in faulenden Knöllchen sind noch ihre Reste wahrnehmbar.

Der Gegensatz gilt von den Fäden bei *Anthyllis* und *Melilotus*, welche sehr schnell verschwinden, so daß sie leicht übersehen werden können, wenn man nur ältere Knöllchen berücksichtigt.

In ihrem Aussehen haben die Infektionsfäden mit den Hyphen niederer Pilze viel ähnliches, sie wurden auch mehrmals für solche gehalten. So in der ersten anatomischen Studie der Knöllchen von Eriksson¹⁾ werden die Infektionsfäden für Hyphen gehalten. Marshall Ward²⁾ meint, daß die Infektionsröhren (infection-tubes) vielleicht einer Ustilaginee gehören könnten. Er beschreibt die trompetenähnlichen Anschwellungen der Fäden am Durchgange durch die Zellwand, die zahlreichen Anschwellungen der Fäden von kugelig oder birnförmiger Gestalt, welche kleine Knospen hervortreiben, durch deren Teilung vielleicht die ganze Bakteroidenmasse entsteht.

Diese Beobachtung hat meines Wissens später niemand weder bestätigt noch widerlegt, ich glaube deswegen, weil man die Frage der Fäden mit der Zoogloeatheorie als definitiv beseitigt betrachtet.

Auch Vuillemin hielt früher die Infektionsfäden für einen Pilz, *Cladochytrium tuberculorum*, hat jedoch diese Ansicht neuerdings verlassen und erklärt die Fäden als von der Wirtszelle umschiedene Massen der Knöllchenbakterien.

Von typischen Hyphen unterscheiden sich jedoch die Infektionsfäden in mancher Hinsicht. Es sind zuerst die eigentümlichen schildförmigen Erweiterungen der Fäden am Durchtritt der Zellwände, die regellose Verästelung und Anschwellung der Fäden, wodurch ihr Durchmesser sehr veränderlich wird, stärkeres Lichtbrechungsvermögen, höckerige Oberfläche, Mangel an Membran und das Verhalten der Fäden beim Zerreißen — lauter Erscheinungen, die bei Hyphenpilzen nicht vorkommen.

Am meisten ist die letztgenannte Eigenschaft charakteristisch. Man

1) Acta Univ. Lund. T. 10, 1873.

2) Phil. Transactions V. 1889 (nach M. Dawson [5]).

trifft oft in älteren, größeren Bakteroidenzellen Fadenstücke an, welche dem raschen Zuwachs der Zelle Schritt zu halten nicht vermochten und infolgedessen zerrissen wurden. Die Enden beider Bruchstücke sind zu Spitzen ausgezogen, wie beim Glasröhrchen, das über einer Flamme geteilt wird; solche Teilung ist nur für plastische Körper denkbar.

Nicht ganz unbestreitbar ist die Membranlosigkeit der Infektionsfäden. Schon M. Ward sah sich gezwungen, die Gebilde „infection tube“ zu nennen, weil man am Querschnitt des Fadens eine stärker färbare, mehr kompakte Schicht wahrnehmen kann, welche auf älteren Glycerinpräparaten auch bei der Seitenansicht des Fadens sichtbar wird. Die chemische Reaktion zeigt jedoch, daß diese Oberflächenschicht mit der Hyphenmembran der Pilze nicht identisch ist.

Noch mehr als irgend welcher anderer Umstand verleiht das Vorhandensein der kugeligen Anschwellungen den Infektionsfäden das Aussehen der Pilze. Bevor wir zur näheren Beschreibung dieser Gebilde übergehen, soll noch das Verhältnis der Fäden zu den Bestandteilen der Wirtszelle allgemein besprochen werden.

Allgemein läßt sich behaupten, daß die Einwirkung der Fäden auf die Wirtszellen schädlich ist, aber indirekter Weise zu Stande kommt. Die Schädlichkeit zeigt sich einfach darin, daß die Knöllchen von den hintersten, d. h. am längsten von den Parasiten bewohnten Zellenpartien des Bakteroidenparenchyms abzusterben beginnen, also gerade umgekehrt, als man bei normalen Wurzeln erwarten könnte. Das erste Kennzeichen des schädlichen Einflusses des Fadens ist die abnormale Vergrößerung des Kernes, welcher auf seiner Peripherie lappenförmig wird (besonders auffallend ist diese abnormale Gestaltung der Kerne bei *Enterolobium*), häufig kann auch Vermehrung der Nucleoli und direkte Kernteilung beobachtet werden (*Trifolium pratense*), so daß in der jungen Partie des Bakteroidengewebes zahlreiche mehrkernige Zellen vorkommen.

Durch weitere Entwicklung des Parasiten und infolge seiner Lebensvorgänge werden die Lumina der Wirtszellen erweitert, so daß die älteren Bakteroidenzellen alle normalen Zellen der Leguminose an Größe beträchtlich übertreffen.

Der allgemeine Habitus der „reifen“ Bakteroidenzellen ist bei fast allen Leguminosen (die Lupine ausgenommen) beinahe derselbe. An der Wand einer zentralen Vakuole ist als ein unregelmäßiger Klumpen der Ueberrest des Kernes angedrückt. Mehrere Vakuolen trifft man nur in jüngeren Zellen an. Der übrige Raum ist mit Bakteroiden ausgefüllt, welche zur Vakuole nicht selten konzentrisch orientiert sind.

Wir haben bereits zwei Stadien in der Entwicklung der Bakteroidenzelle geschildert, die sich leicht direkt beobachten lassen. Schwieriger ist die Aufgabe, den Uebergang zwischen den beiden zu beschreiben, weil hier die einzig vollkommen verlässliche Quelle, die direkte Beobachtung der Entwicklung, nicht durchführbar ist. Ich habe es mehrmals versucht, einen mehrere Zellschichten starken Schnitt in einem Kulturtröpfchen einige Zeit zu halten, um die Veränderungen des Fadens in den mittleren unverwundeten Schichten direkt beobachten zu können. Obzwar ich verschiedene Kulturflüssigkeiten benutzt hatte, doch blieben alle Versuche, die Fäden zur Weiterentwicklung zu bringen, erfolglos, wahrscheinlich deswegen, weil sich im Tröpfchen nicht einmal annähernd ähnliche Lebensbedingungen herstellen lassen, wie sie in lebendigen Knöllchenzellen vorhanden sind. Diese Unveränderlichkeit der Fäden in der Kultur ist das einzige Moment, woran Vuillemin's Hypothese

— die Fäden seien Ausscheidungen der Wirtszellen — gestützt werden könnte.

Die schädliche Einwirkung des Parasiten auf den Kern ist mindestens im Stadium des Fadens mehr indirekt. Es ist nämlich nicht wahr, wie man zu behaupten pflegt, daß sich der Faden nach seinem Eintritt in die Zelle direkt dem Kerne anknüpfen müsse; das letztere ist zwar keine seltene Erscheinung, aber allgemein gilt es gar nicht, besonders beim Durchtritt der Rinde gehen die Infektionsfäden an den Kernen vorüber, ohne sie zu berühren (Taf. II, Fig. 3). Es scheint vielmehr das Protoplasma das eigentliche Ziel seines Angriffes zu sein, weil man davon in den typischen Bakteroidenzellen fast keine Spur findet, indem die Zelle, mit Ausnahme der Vakuole und des Kernrestes, von der Bakteroidenmasse erfüllt ist. Der Kern degeneriert zwar ebenso, aber wird nicht so vollständig verzehrt oder verdrängt, sondern bleibt immer als unregelmäßiger Klumpen unter den Bakteroiden wahrnehmbar.

In sehr jungen Erbsenknöllchen konnte ich beobachten, daß der Infektionsfaden immer mehrere Zellen nacheinander direkt durchtrat, ohne den Kern und das Protoplasma anzugreifen, dann aber je eine Zelle vollständig ausfüllte, so daß sich ihr Inneres durch Glycerin-Vesuvium intensiv braun färbte. Solche Zelle wurde dann zum Mittelpunkt, von welchem sich allseitig zahlreiche Fadenäste abzweigten. Sonst geht die Verästelung gewöhnlich von den wandständigen Fadenscheiben aus.

Die wunderbarsten Teile der Infektionsfäden sind ihre Anschwellungen, deren Form und Anzahl bei derselben Pflanze bedeutend variiert. Diejenigen Autoren, welche die Fäden für Pilzhyphen hielten, mußten darin natürlich Sporangien sehen. Brunchorst (1) glaubte sogar, die Sporenbildung in den Anschwellungen beobachtet zu haben.

Ein Irrtum ist hier besonders leicht, indem die Anschwellungen ohne Benutzung von Reaktionen leicht mit Zellkernen oder Stärkekörnern verwechselt werden.

Besonders merkwürdige Anschwellungen fand ich in jungen Knöllchen von *Trifolium pratense*, *T. pannonicum*. Manche von ihnen treiben nämlich aus ihrer Oberfläche abgerundete Höcker hervor, welche im späteren Stadium entweder eine der mütterlichen Anschwellung ähnliche Gestalt annehmen und sich ähnlich weiter verästeln, oder Bakteroiden vorstellen, welche also in diesem Falle aus dem Faden sprossen (Taf. I, Fig. 3—5).

Die Bakteroiden können jedoch auch an anderen Stellen aus dem Infektionsfaden hervortreten.

Auf frischen Schnitten von *Medicago sativa* fand ich öfters strauchförmige Gruppen von länglichen Bakteroiden, welche aus dem Faden hervorgesprossen zu sein schienen. Deutliche netzförmige Gruppierung zeigen auch die jungen Bakteroiden in den Kleeknöllchen; ihr Netz steht mit dem Faden in Verbindung. Bei *Enterolobium* ist der Faden dünn, aber doch deutlich, seine Endzweige sind von den Bakteroiden sehr wenig verschieden.

Ob die Gruppierung der Bakteroiden bei *Medicago*, *Trifolium* etc. durch Teilung derselben zu stande gekommen war, konnte ich nicht feststellen, weil — wie bereits erwähnt — sich die Entwicklung dieser Gebilde nicht direkt beobachten läßt.

Ich halte diese Beobachtungen für identisch mit denjenigen, welche

M. Ward¹⁾ getan hat (über die gemmenartige Sprossung aus den Anschwellungen), und muß noch hervorheben, daß ich solche Sprossungen mehrmals auch vorher beobachtet hatte, aber weil sie nur zerstreut vorkamen, hielt ich sie für etwas Zufälliges. Erst im Frühjahr 1905 beschäftigte ich mich mit lauter jungen Knöllchen von den oben genannten Kleearten, wobei in den Zellenpartieen, wo noch keine oder nur spärliche freie Bakteroiden vorkamen, die beschriebenen sprossenden Anschwellungen sehr oft vorkamen und manchmal auffällig entwickelt waren. Ich suchte dann auch in jungen Knöllchen anderer Leguminosen solche Verästelungen zu finden, und in den meisten Fällen gelang es mir, obzwar die Erscheinung nirgends so typisch hervortritt, wie beim Klee (Taf. I, Fig. 1 u. 2).

Wie erwähnt, entwickeln sich einige Anschwellungen oder Fadenhöcker später höchst wahrscheinlich zu Bakteroiden; es lassen sich nämlich allmählich Uebergänge von den kleinen Anschwellungen zu minder lichtbrechenden Bakteroiden verfolgen. Nicht so leicht lassen sich die größeren Anschwellungen erklären, welche je mehrere Bakteroiden enthalten. Ihre Bedeutung wird noch am Ende der Abhandlung besprochen.

Die Bakteroiden.

Wie die Infektionsfäden, so auch die Bakteroiden haben eine ganze Reihe von Deutungen und Erklärungen durchgemacht. So wurden sie von Frank, Tschirch u. a. für Eiweißgebilde der Leguminose gehalten, „die von ihr erzeugt und wieder aufgelöst werden, in denen aber ein micrococcusartige Mikrobe eingeschlossen ist“ (4).

Solche und ähnliche Vermutungen mußten sofort fallen, als es Beijerinck gelungen ist, die Bakteroiden in der Reinkultur des Mikroorganismus zu züchten. Jetzt gilt es als feste Tatsache, daß die Bakteroiden ein Stadium des Parasiten vorstellen. Das ist jedoch alles, was man über die Bakteroiden sicher behaupten kann!

Die jetzt übliche Erklärung der Bakteroidenbildung lautet: Der Mikroorganismus gelangt im Inneren des Fadens durch eine Gallerte geschützt (als Zoogloea) in die Wurzel. Sobald er jedoch aus der schützenden Hülle in den Zellraum austritt, wird er durch Einwirkung des Zelleninhaltes in Bakteroiden, d. h. abnormal vergrößerte, verästelte Bakterienformen umgewandelt. Mit der Bildung von Bakteroiden beginnt die Assimilation des Luftstickstoffes.

Die Bakteroiden sind in den jüngeren Knöllchenpartieen kleiner, dünner und minder verzweigt als in den älteren, auch ist im ersten Falle ihr Inhalt scheinbar homogen, dagegen finden sich in den blassen, stark angeschwollenen und reichlich verästelten Bakteroiden der älteren Partieen kleine, stärker lichtbrechende Körperchen, eins bis sechs in einem Bakteroiden. Behandelt man den Schnitt mit verdünnter Kalilauge, so erscheint das Innere von jüngeren Bakteroiden von einem Körperchen eingenommen, das sich von den Körperchen der älteren nach dieser Reaktion optisch nicht unterscheiden läßt. Aehnlichen Erfolg erzielt man durch die Präparation für die Färbung mit Safranin-gentianaviolett.

Je älter die Bakteroiden sind, desto blasser wird ihr Kontur und desto mehr treten ihre Inhaltskörperchen hervor, so daß die

1) Nach M. Dawson (5).

ganze Masse — auch ohne Färbung und Präparation — nur aus denselben zusammengesetzt erscheint; die Täuschung wird gesteigert durch die Präparation für Serienschritte¹⁾.

Im Winter zeigen manchmal die Bakteroidenzellen von *Trifolium pratense* eine wabenförmige Gliederung des Inhaltes; die sehr stark vergrößerten Bakteroiden bekommen durch gegenseitigen Druck sechseckige Gestalt.

Wo die Degeneration der Knöllchen regelmäßig vor sich geht, dort kommen in den hintersten Partien des Bakteroidengewebes Zellen mit homogenem, wachartigem, lappenförmig begrenztem Inhalte vor, sowie auch andere, deren Inhalt noch feinkörnig und mit Fetttropfchen vermischt ist. Uebergangsstufen belehren uns, daß es Reste der Bakteroidenmassen sind.

Schon diese Erscheinungen machen es wahrscheinlich, daß der Mikroorganismus, sobald wie er zu Bakteroiden wird, zu degenerieren beginnt, die Umwandlung zu Bakteroiden ist eine pathologische Veränderung. Zu demselben — einigermaßen negativen — Resultat führen auch die Versuche, die Weiterentwicklung der Bakteroiden in Kulturtröpfchen direkt zu beobachten. Ich habe ihre Kultivierung im Wasser, in Gelatinetröpfchen, im Leguminosendekokt versucht, konnte aber keine merkliche Veränderung feststellen, obzwar die Beobachtung eine ganze Woche, manchmal noch länger, dauerte.

Dasselbe haben auch Stutzer und Hiltner (9) bei den in der Reinkultur des *Bacillus radicola* entwickelten Bakteroiden festgestellt; sie „sind denjenigen der Knöllchen ähnlich, aber teilen sich weiter nicht“²⁾. Hiltner's (12) Hypothese — die Bakteroiden stellen unvollständig entwickelte Sporangien vor — ist durch die Tatsachen wenig gestützt.

Nach den bisherigen Erfahrungen ist man dazu berechtigt, die Bakteroiden bis auf weiteres für Involutionsformen des *Bacillus radicola* zu halten, die nur in jüngeren Stadien teilungsfähig sind. Die Lebensfähigkeit der jüngeren Bakteroiden muß angenommen werden — obzwar auch hier direkte Beobachtung fehlt — weil sonst keine Kultur der Knöllchenorganismen möglich wäre.

Das Vorhandensein typischer Bakterienformen in den Knöllchen wird nämlich bei vorsichtiger Untersuchung höchst fraglich; ich wenigstens habe solche nicht einmal in den Infektionsfäden mit voller Sicherheit wahrgenommen. Die Mikroorganismen sind im Faden gewöhnlich dicht angehäuft. Benutzt man Reaktionen zu ihrer Sichtbarmachung, so treten besonders ihre Inhaltskörperchen hervor, und man hat manchmal den Eindruck, kleine Bakterien vor sich zu haben. Besser läßt sich die Sache beobachten, wenn der Schnitt längere Zeit in Glycerin-Vesuvium gehalten wird. Die Täuschung kommt dadurch zu stande, daß die Bakteroidenkörper mit Ausnahme erwähnter Inhaltskörperchen, annähernd dasselbe Lichtbrechungsvermögen besitzen, wie die Gallerte des Infektionsfadens. Nur dadurch, daß auch im Inneren der Fäden Bakteroiden sich bilden, wird es möglich, daß sie daraus sprossen können, wodurch die zahlreichen Höcker der Fäden entstehen.

Auch ist die geläufige Meinung, daß die Gallerte des Fadens eine

1) Dadurch kann vielleicht das sonderbare Aussehen der Mikroorganismen auf Pierces (11) Figuren erklärt werden.

2) Worte des Referates in Josts Jahrbüchern.

die Bakterien vor dem Angriffe des Zellsaftes und des Plasmas schützende Hülle vorstellt, nicht genügend begründet. Nur dadurch kann der üppige Wuchs des Fadens zu stande kommen, wenn den in seinem Inneren sich befindenden Mikroorganismen viel Nahrung aus dem Zellinhalte zukommt, die Gallerte muß also für manche Stoffe vorzüglich durchgängig sein.

Bei *Anthyllis vulneraria* konnte ich lange Zeit hindurch keine Bakteroiden sowie keine Fäden finden, denn die Degeneration geht hier so rasch vor sich, daß man am Schnitte nur eine feinkörnige Masse, hie und da mit Resten von Stärkekörnern, wahrnehmen kann.

Zusammenhang der Bakteroiden mit den Fäden.

Die Infektionsfäden mit ihren Anschwellungen sind von den isolierten Bakterien oder Bakteroiden so optisch verschieden, daß sie leicht für einen ganz selbständigen Organismus gehalten werden. Dazu tritt noch der Umstand, daß der Zusammenhang der Bakteroiden mit den Fäden nicht immer deutlich ist.

Nachdem die Lage der Mikroorganismen im Inneren der Fäden bewiesen war, suchte man ihre Austrittsstelle zuerst natürlich am Ende der Fadenzweige. Tschirch (2) z. B. zeichnet Zellen, in denen eine Fadenendigung in eine undeutliche Bakterienmasse zerfließt.

Ich konnte jedoch — trotz eifrigen Nachsuchens — auf nichts solches treffen, dagegen fand ich oft mit Bakteroiden erfüllte Zellen, welche von einem Infektionsfaden durchzogen wurden, dessen Oberfläche zwar zahlreiche Höcker aufwies, aber sonst keine Spur des Zerfließens zeigte. Weiter können noch in den ältesten Bakteroidenzellen der Kleearten, wie auf frischen Freihandschnitten, so auf fixierten, gefärbten Präparaten bedeutende, ganz unstreitbare Fadenstücke konstatiert werden, was nicht gut denkbar wäre, wenn die Bildung der Bakteroidenmasse vom Zerfallen des Fadens abhinge. Bei denjenigen Leguminosen dagegen, deren Fäden sich durch geringe Dauerhaftigkeit auszeichnen, sind zerfallende, oder zerfließende Fäden keine seltene Erscheinung, welche jedoch für das Freiwerden der Bakteroiden ganz bedeutungslos ist, weil die letzteren auch in Zellen, deren Fäden noch unverzehrt sind, schon reichlich vorkommen.

Aus diesen Tatsachen wird mindestens wahrscheinlich, daß die Mikroorganismen aus dem Faden auf beliebiger Stelle auszutreten im stande sind, wozu auch die kleinen Höcker der Fadenoberfläche, die Bakteroiden enthalten und in solche allmählich übergehen, die einzeln oder gruppenweise den Fäden ansitzenden Bakteroiden hindeuten. Es ist nicht ausgeschlossen, daß die größeren Anschwellungen besonders bevorzugte Austrittsstellen sind, doch sicher nicht ausschließliche! Der einzig völlig überzeugende Beweis, die Beobachtung in vivo, ist mir noch nicht gelungen.

Die Ward'sche Hypothese über den Ursprung der Bakteroiden wurde schon besprochen, sie ist insoweit unrichtig, daß sie die Sprossung von Bakteroiden bloß auf die großen Anschwellungen beschränkt.

Die Franksche Schule wollte über diesen Zusammenhang gar nichts wissen; Frank (4) hält die Fäden für Gänge, durch welche die Mikroorganismen in die Pflanze gelangen. Diese Gänge sollen von der Pflanze selbst geliefert werden.

Eine ganz originelle Anschauung über das Wesen der Infektions-

fäden hat neuerdings Vuillemin (15) geäußert. Derselbe hat richtig beobachtet, daß am Infektionsfaden die äußere Scheide und die innere Gallerte mit den Mikroorganismen zu unterscheiden sind. Die Scheide soll Produkt der Wirtszelle sein (darin stimmt diese Hypothese mit der Frankschen überein), und stellt nach dem Autor nur Fortsetzung der hypertrophierten Zellmembran vor.

Seine Hypothese stützt der Autor, wie es scheint, auf die vermeintliche Tatsache, daß jene Scheide in ihrer Konsistenz mit der Zellmembran übereinstimme, sie soll in der Mehrzahl der Fälle cellulosisch beim Durchtritt der Endodermis verkorkt sein. Wie er zu dieser Ansicht über die Zusammensetzung der Scheide gekommen, sagt der Autor nicht.

Kein Teil des Fadens reagiert doch auf Cellulose! Es wurde bereits 1894 von Beijerinck festgestellt und jedermann kann die Reaktion wiederholen. Es genügt übrigens, einen mit Safranin oder Vesuvin gefärbten Schnitt nur einmal zu sehen, um sich über die Verschiedenheit der Fadenscheide und der Zellmembran zu überzeugen. Vuillemin's Ansicht kann mit ihren Einzelheiten also nicht bestehen; eine allgemeinere Tatsache ist jedoch richtig daran. Die Bildung des Fadens ist, den bisherigen Erfahrungen nach, durch zwei Faktoren bedingt, die Tätigkeit des Parasiten und die Einwirkung des Zellinhaltes. Auch das Material zum Bau des Fadens muß, als Nahrung des Parasiten, aus dem Zellinhalte geschöpft werden.

Die letzten zwei Hypothesen haben nur negative Gründe für sich. Die Fäden wurden in der Tat bisher nicht außerhalb der Knöllchenzellen gezüchtet; dadurch wird jedoch noch nicht absolut sicher, daß sie überhaupt nicht gezüchtet werden können. Ebenso behauptete man früher, daß die Bakteroiden sich nur in den Knöllchenzellen entwickeln, und auf Grund dieser „Tatsache“ wurden die Frankschen Hypothesen über ihre Bedeutung gebaut. Wird sich die Geschichte bei den „Infektionsfäden“ nicht wiederholen?

Zur Erklärung der komplizierten Gestalt der Fäden scheint die Zukalsche Hypothese am besten geeignet. Hält man den Parasiten für eine Myxobacteriacee, dann ist die Entwicklung der Gallertfäden nichts Sonderbares mehr. Die Anschwellungen, besonders wenn sie zusammengesetzt sind, stellten dann Anfänge der Konidiophorenbildung dar. Auch eine der Bakteroidenbildung analoge Anschwellung und Verästelung von Myxobakterien wurde von Zukal (8) beschrieben. Zukal fügt hinzu: „Der Gedanke, daß Bakterien in nackte rhizopodenartige Gebilde übergehen können, die dann miteinander fusionieren, ist um nichts phantastischer, als die Schwärmsporenbildung überhaupt. In seinem Lichte würden sich manche Erscheinungen, die bisher dunkel blieben, sofort erhellen. Ich denke z. B. an den Infektionsschlauch des *Rhizobium Leguminosarum*.“

Bei *Chondromyces* entstehen die Sporen nach Zukal folgenderweise: Der Bakterienhaufen geht zuerst in die Säulchenform über, diese verzweigt sich in einer bestimmten Weise, die Enden der Zweige schwellen kolbig an und aus diesen Anschwellungen entstehen erst wieder durch bloße Verstälpung der zähflüssigen Masse die Cysten.

Für solche Cysten könnten vielleicht die Tochteranschwellungen der Fäden in den Figuren Taf. I, Fig. 2, 3, 4, 5, Taf. II, Fig. 6 erklärt werden¹⁾.

1) Wiederholt muß ich bemerken, daß in den Figuren keine Verwechslung der Anzweigungen vorliegt.
Zweite Abt. Bd. XVI.

Auch die Myxobakterien lassen sich nicht auf jedem künstlichen Substrate im typischen plasmodienartigen Zustande kultivieren, so daß auch die ähnliche Mißerfolge bei *Rhizobium* in dieser Hinsicht keinen wesentlichen Einwurf gegen die Hypothese vorstellen können.

Kultur des *Bacillus radicecola*.

Ich kultivierte zuerst den *Bacillus* aus den Knöllchen von *Trifolium pratense*. Als Substrat diente in erster Reihe Gelatine mit einem Dekokt aus Kleewurzeln. Die Kultur wurde in Kristallenschalen ausgeführt. Das Impfmaterial wurde direkt aus den mit Sublimat abgespülten und mit sterilem Messer längs zerschnittenen Kleeknöllchen genommen. Zum Herstellen aller Impfstriche wurden neun Knöllchen benutzt, aus jedem Knöllchen zwei Impfstriche gemacht. In zwei Fällen blieben die Impfstellen steril, in einem Falle entstand eine gelbliche, Gelatine verflüssigende Kolonie von ziemlich großen rundlichen Cocci, in allen übrigen Fällen war das Resultat identisch: es entwickelten sich typische, weißliche, knöpfenartige Kolonien, die Gelatine nicht verflüssigten und deren Farbe außerordentlich an Paraffintröpfchen erinnerte. Die Kolonien bestanden aus sehr kleinen kurzen, unbeweglichen Stäbchen, Bakteroidenbildung wurde hier nicht beobachtet.

Die Stäbchen waren weit kleiner als die kleinsten Mikroorganismen der Knöllchen, und doch erlaubt die Uebereinstimmung der Kulturen untereinander, sowie mit der Beschreibung Prażmowski's u. a. nicht daran zu zweifeln, ob ich es in der Tat mit Reinkulturen des *Bacillus radicecola* zu tun hatte. Ich wiederhole also das schon oben Gesagte: Die Mikroorganismen in den Knöllchen sind lauter Bakteroiden, nur ihre Inhaltskörperchen stehen in Betreff der Größe den Bakteroiden nahe.

Zwei Kleepflänzchen, welche bisher in sterilisierter Erde gewachsen, wurden mit einer durch Wasser verdünnten Kultur begossen und entwickelten im Laufe von 14 Tagen mehrere Knöllchen, welche anatomisch auch in Bezug auf die Infektionsfäden und Bakteroiden mit den natürlichen vollständig übereinstimmten. Diesen Versuch, den ich leider nur in so kleinem Maßstabe veranstalten konnte, entschloß ich mich durchzuführen, weil ich in der Literatur nirgends bestimmte Auskunft darüber finden konnte, ob die durch künstliche Bakterienkultur verursachten Knöllchen alle cytologischen Komponenten aufweisen, wie diejenigen der wildwachsenden Pflanzen. Ohne solchen experimentellen Beweis wäre es nämlich zweifelhaft, ob die Fäden doch vielleicht einem Pilze nicht angehören, dessen Hyphen vom Mikroorganismus zum Eindringen in die Wurzel benutzt werden.

Außerdem wurden Kulturen des Knöllchenorganismus von *Onobrychis sativa* angelegt und zwar auf sterilisierten Kartoffelkuchen. In der ersten Woche war die Infektionsstelle nur wenig feuchter als die übrigen Parteien des Nährsubstrates. Bei der Untersuchung solcher Kultur erschienen die Stärkekörner des Substrates mit winzigen Bakterienstäbchen bedeckt. Im Laufe der folgenden Woche bildeten sich in den unberührten Kulturen an den Infektionspunkten lehmfarbige, stark glänzende Ueberzüge, welche, nachdem sie eine gewisse Größe erreicht hatten, einzutrocknen begannen.

schwellungen mit Stärkekörnern oder Kernen stattfinden konnte, weil ich mich in jedem Falle der bezüglichen Reaktionen bediente.

Unter dem Mikroskope hatte die Masse auffallend ähnliches Aussehen mit derjenigen in den älteren Zellen des Bakteroidengewebes (Taf. II, Fig. 7). Sie war aus bakteroidenähnlichen Körperchen zusammengesetzt, welche dieselben Eigenschaften zeigten, wie die Bakteroiden der Knöllchen; auch Inhaltskörperchen waren vorhanden, der Kontur war nicht gleich stark, in Kulturtröpfchen ließ sich keine weitere Entwicklung erzielen.

Ich muß also diese Formen für Involutionsformen halten, welche mit Bakteroiden identisch sind.

Auch Beijerinck (1888) und Miss Dawson (1889) haben die Bakteroiden auf festem Substrate (Gelatine) gezüchtet. Süchtings (13) Ansicht, zur Bildung von Bakteroiden sei flüssiges Medium nötig, ist danach nicht berechtigt.

Zur Beleuchtung des Wesens der Bakteroiden und ihrer Inhaltskörperchen soll hier noch die Abhandlung von Blau, Ueber die Temperaturmaxima der Sporenkeimung (15) zitiert werden. Der Autor führt u. a. aus, daß in älteren Kulturen von *Bacillus cylindricus* A. M. et Blau in großer Menge Kugeln verschiedener Größe vorkommen, die im Inneren oft mehrere zusammenhängende klumpige Massen aufweisen, welche sich nach Benutzung von Reagentien als Plasmaklumpen erwiesen. Die Membran der Kugeln ist ungefähr ebenso stark wie bei Stäbchen und Oidien. Die Kugeln, zuerst vereinzelt, werden später sehr zahlreich. Aus Kugeln selbst läßt sich keine Kultur züchten.

Ebensolche Involutionsformen, welche weiterer Teilung unfähig sind, stellen die Bakteroiden vor.

Degenerationsvorgänge in den Knöllchen.

Es wurde schon oben ausgeführt, wie sich einzelne Knöllchentypen in dieser Hinsicht unterscheiden. Auch die Vorgänge in den Bakteroidenzellen wurden schon geschildert (das Verschwinden der Bakteroidenkontur, Entstehen einer körnigen, dann wachstypischen Masse).

Die absterbende Knöllchenpartie nimmt bei *Trifolium pratense* grüne, bei *Medicago sativa*, *Melilotus* off. rötliche Färbung an. Die grüne Färbung der Knöllchenzellen von *Trifolium* rührt von einer grünlichen Flüssigkeit her, welche insbesondere solche Zellen ausfüllt, in denen die Reste von Bakteroiden entweder fehlen oder nur spärlich vorkommen. In denselben Zellen finden sich noch häufig grünliche unregelmäßige Massen vor, welche die Stärkereaktion zeigen und besonders regelmäßig auch bei *Enterolobium* vorkommen.

Ob diese „grüne Masse“ mit derjenigen identisch ist, welche von M. Dawson (5) erwähnt wird, ist sehr zweifelhaft; unsere Körperchen sind wahrscheinlich Reste von Starkekörnern, dagegen werden bei M. Dawson vielmehr die unregelmäßigen Kernreste gemeint, die unter Umständen, besonders beim Benutzen von Reagentien grünliche Farbe annehmen können¹⁾.

Besonders wunderbar verläuft die Degeneration von Fadenschwellungen bei *Trifolium*, wenn die Knöllchen in feuchter Luft gehalten werden. Dieselben vergrößern sich nämlich, runden sich ab,

1) So von meinen Präparaten auf denjenigen, welche mit der Flemmingschen Flüssigkeit fixiert, mit Tanninlösung gebeizt und mit Gentianaviolett gefärbt wurden.

ihr Kontur wird deutlicher, sie nehmen Form und Aussehen von großen Fetttröpfchen an; auch sind sie langsam in Aether, rasch in Chloroform löslich. Bakteroiden kommen in solchen Anschwellungen sehr spärlich vor und nach ihrer zitternden Bewegung muß man auf einen flüssigen Zustand des Substrates schließen.

In anderen Fällen (im Wasser, beim Verfaulen des Knöllchens) degenerieren die Anschwellungen ebenso wie die übrigen Fadenteile, d. h. durch allmähliches Zerfließen. So viel ist sicher, daß die Anschwellungen in älteren Zellen keine wesentliche Bedeutung haben.

Mit der fettigen Degeneration der Anschwellungen hängt die Erscheinung zusammen, daß sie auf den Serienschnitten, die mit Safranin-Gentianviolett gefärbt worden sind, ungefähr dieselbe Färbung aufweisen, wie die Nucleoli, indem die übrigen Fadenteile nur sehr schwach violett gefärbt sind (die eingeschlossenen Bakteroiden mit den stark färbbaren Inhaltkörperchen ausgenommen).

Das gegenseitige Verhältnis der Pflanze und des Parasiten.

1) Der Mikroorganismus ernährt sich zwar einige Zeit auf Kosten der Pflanze, dann aber nimmt er pathologische Form an und degeneriert. An dieser Degeneration ist vor allem die Anhäufung eigener schädlicher Produkte beteiligt, welche

2) zugleich die Degeneration der Wirtszellen und schließlich der ganzen Knöllchen bewirkt. Ja, die Degeneration der Zelle beginnt früher (der Kern!), so daß von einem Aussaugen von seiten der Pflanze kaum die Rede sein kann. Den Uebergang der stickstoffhaltigen Assimilate in die oberen Pflanzenteile kann man sich denken als Folge von denselben rein physikalischen Gesetzen der Osmose, Adhäsion etc., durch welche in normalen Pflanzenteilen die Eiweißstoffe und andere Assimilate in Bewegung gesetzt werden.

3) Die Pflanze als ein Ganzes gewinnt bei dieser Symbiose, indem sie die stickstoffhaltigen Produkte der Lebenstätigkeit des Parasiten für ihre Zwecke verbraucht.

Uebersicht der Resultate.

1) Knöllchen, die in der Achsel eines Würzelchen an einer stärkeren Wurzel zu sitzen scheinen, sind in der Tat Seitensprosse des ersteren. (Gilt für den Robinia-Typus.)

2) Runde, auf einmal degenerierende Knöllchen kommen auch bei mehrjährigen Leguminosen vor (Anthyllis).

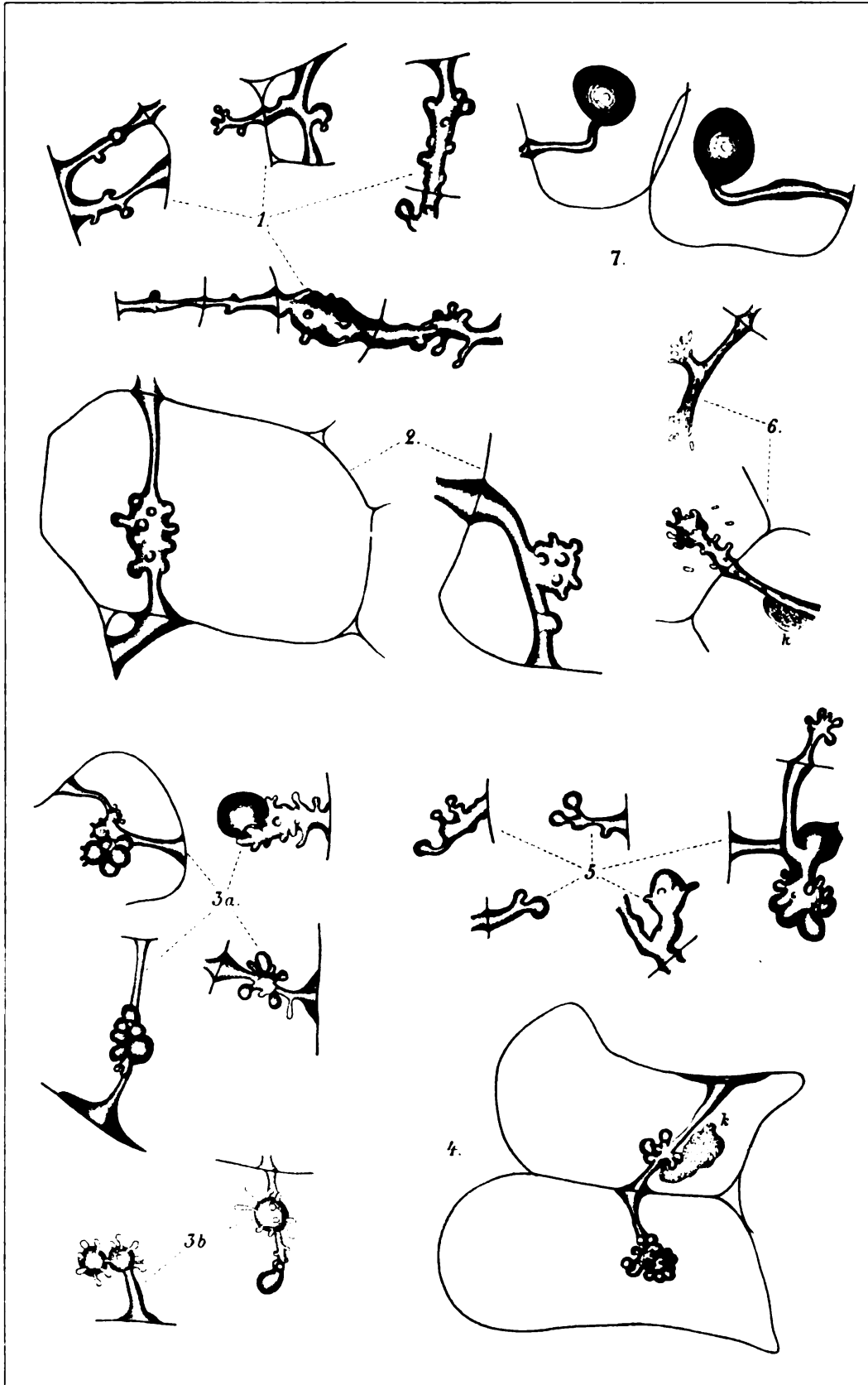
3) Den Leguminosenknöllchen sind die Wurzelknöllchen einheimischer Orchideen homolog.

4) Bei den keulenförmigen Knöllchen wird die Infektionsstelle durch die geotropische Lage des Meristems allmählich nach hinten verschoben.

5) Die Knöllchen von Galega stellen (in allen vom Autor beobachteten Fällen) Speicherorgane vor.

6) Die Infektionsfäden sind bei Phaseolus zwar weniger dauerhaft, aber sonst in ebensolcher Menge vorhanden, wie bei der Mehrzahl der übrigen Leguminosen.

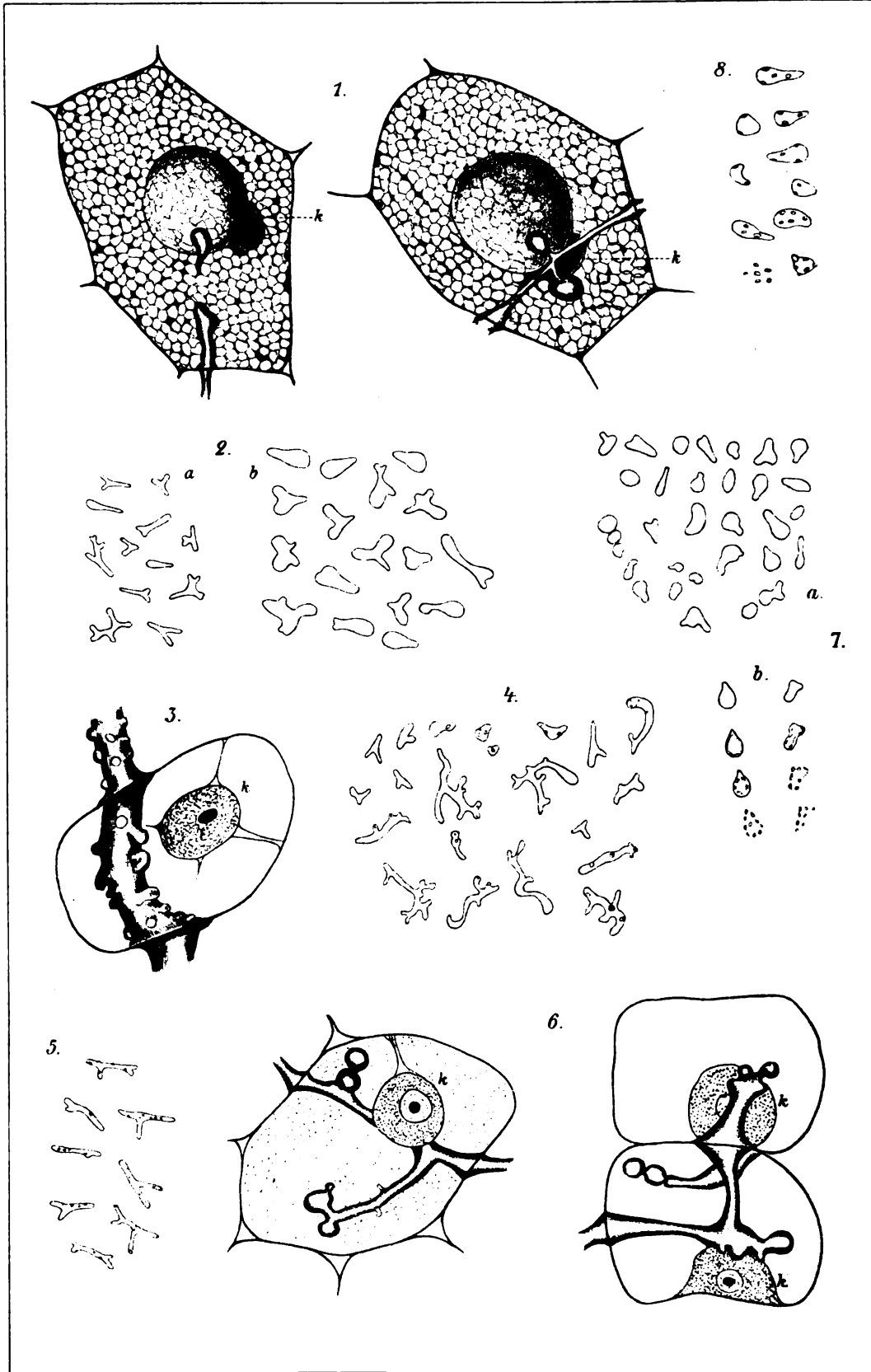
7) Durch sonderbare Dauerhaftigkeit zeichnen sich die Infektionsfäden der Klearten aus.



Stefan gez.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.



Stefan gez.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

8) Die jungen Infektionsfäden (insbesondere bei *Trifolium*) tragen zahlreiche, manchmal zusammengesetzte Anschwellungen. Die kleineren Anschwellungen stellen meist austretende Bakteroiden vor.

9) Die Bakteroiden sind Involutionsformen, welche auch im Inneren der Fäden sich bilden, in jüngeren Stadien dünn, teilungsfähig, später stark angeschwollen sind und schließlich degenerieren. Sie können auf beliebiger Stelle aus den Fäden austreten.

10) Für die Erklärung des Fadenzustandes von *Bacillus radicola* wäre es geeignet, denselben in die Nähe von Myxobakterien zu stellen.

Literatur.

- 1) Brunchorst, Ueber die Knöllchen an den Leguminosenwurzeln. (Ber. d. d. bot. Ges. 1885.)
- 2) Tschirch, Beiträge zur Kenntnis der Wurzelknöllchen der Leguminosen. (Ber. d. d. bot. Ges. 1887.)
- 3) Beijerinck, Die Bakterien der Papilionaceenknöllchen. (Bot. Ztg. 1888.)
- 4) Frank, Ueber die Pilzsymbiose der Leguminosen. (Ber. d. d. bot. Ges. 1889.)
- 5) Dawson, Maria, Further observations on the nature and functions of the nodules of leguminous plants. (Phil. Transact. Roy. Soc. London 1890.)
- 6) Prazmowski, Landw. Versuchsstat. Bd. XXXVIII. 1890.
- 7) Frank, Ueber die auf Verdauung von Pilzen abzielende Symbiose. (Ber. d. d. bot. Ges. 1891.)
- 8) Zukal, H., Ueber die Myxobacteriaceen. (Ber. d. d. bot. Ges. 1897.)
- 9) Stutzer-Hiltner, Centralbl. f. Bakt. Bd. VI. 1901.
- 10) Fischer, Vorlesungen über die Bakterien, 1903.
- 11) Pierce, N. B., The root-tubercles of bur-clover (*Medicago denticulata*) and of some other leguminous plants. (Proc. Calif. Acad. of Sc. Ser. III. Bot. Vol II. 1903.)
- 12) Hiltner, L., Die Bindung von freiem Stickstoff. 1904. (Lafars Handb. der techn. Mykologie. Bd. III.)
- 13) Süchting, Kritische Studien über die Knöllchenbakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904.)
- 14) Vogel, Die Assimilation des freien elementaren Stickstoffs durch Mikroorganismen. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XV. 1905.)
- 15) Blau, Ueber die Temperaturmaxima der Sporenkeimung. (Daselbst wie 14, 1905.)
- 16) Vuillemin, Hyphoides et bactéroïdes. (Comp. rend. Acad. Sc. Paris. Vol. CXL. 1905.)

Tafelerklärung.

Tafel I.

- Fig. 1. Fadenteile aus jungen Knöllchen von *Anthyllis vulneraria*. Reich. Ok. 3, Obj. 8., Tub. 160.
- Fig. 2. Dasselbe von *Onobrychis viciaefolia*. Vergr. wie 1.
- Fig. 3. Komplizierte Fadenanschwellungen von *Trifolium pratense* (bei 3 a mit Tochteranschwellungen, bei 3 b mit Bakteroiden). Vergr. wie 1.
- Fig. 4. Dasselbe wie 3 a.
- Fig. 5. Dasselbe von *Trifolium pannonicum*. Vergr. wie 1.
- Fig. 6. Fadenstücke von *Phaseolus vulg.* mit Bakteroiden. Vergr. wie 1.
- Fig. 7. Degenerierte Fadenanschwellungen von *Trifolium pratense*. Vergr. wie 1.

Tafel II.

- Fig. 1. Zwei typische Bakteroidenzellen von *Trifolium pratense*. Reich. Ok. 5, Obj. 8., Tub. 160.
- Fig. 2 a junge, 2 b alte Bakteroiden von *Trifolium pratense*. Reich. Ok. 3, Obj. 8, Tub. 160.
- Fig. 3. Rindenzelle eines Knöllchens von *Pisum sativum* mit Bakteroiden tragendem Faden. Zeiss Ok. 5, Obj. D.
- Fig. 4. Bakteroiden von *Lupinus perennis*. Reich. Ok. 3, Obj. 8, Tub. 160.
- Fig. 5. Dieselben von *Mehlotus officinalis*. Vergr. wie 4.
- Fig. 6. Zellen mit Fäden von *Trifolium pannonicum*. Vergr. wie 4.
- Fig. 7 a. Bakteroiden aus der Kartoffelkultur. Reich. Ok. 3, Obj. 8, Tub. 190.
- Fig. 7 b. Degeneration derselben. Vergr. wie 7 a.
- Fig. 8. Degenerationsstufen der aus Knöllchen entnommenen Bakterien. Vergr. wie 7.

Infektionsversuche mit einigen Uredineen.

III. Bericht (1904 und 1905)¹⁾.

Von Prof. Dr. Fr. Bubák (Tábor in Böhmen).

Im Jahre 1904 und 1905 habe ich wieder zahlreiche Infektionen durchgeführt. Eine vorläufige Mitteilung, und zwar nur über die wichtigsten Resultate, wurde in *Annales mycologici*²⁾ veröffentlicht. Hier soll auf die betreffenden Versuche näher eingegangen werden.

1904.

1. *Puccinia argentata* (Schultz) Winter.

Im vorjährigen Berichte habe ich auf Grund erfolgreicher Infektionsversuche dargelegt, daß zu *Pucc. argentata* ein *Aecidium* von *Adoxa* mit orangegelben Sporen gehört.

Es blieb noch übrig, mittels der überwinterten Teleutosporen *Aecidien* auf *Adoxa* hervorzubringen.

Es wurden deshalb am 15. April mehrere *Adoxa*-Pflanzen, die in zwei Töpfen eingesetzt waren, mit keimfähigen Teleutosporen belegt und 4 Tage unter Glasglocken feucht gehalten.

In beiden Töpfen erschienen auf allen *Adoxa*-Individuen erst am 10. Mai Spermogonien und am 15. Mai vollkommen ausgebildete *Aecidien*.

Auffallend ist bei diesen Versuchen die lange Inkubationszeit für die *Aecidien*, welche einen ganzen Monat beträgt. Wie bekannt, durchdringt das Mycel dieses *Aecidiums* die ganze Nährpflanze, indem es sich von den Blattspreiten in die Blattstiele und Stengel ausbreitet. Dieser Prozeß erfolgt sehr langsam und ich konnte noch anfangs Juli auf den Stengeln vereinzelte Pseudoperidien finden.

Die lange Inkubationsdauer ist vielleicht durch diese langsame Ausbildung des Mycels, wobei auch die befallenen Pflanzenteile anschwellen, zu erklären.

In dem vorjährigen Berichte hatte ich die Vermutung geäußert, daß das *Aecidienmycel* in dem Wurzelstocke perenniert.

Um dies zu beweisen, überwinterte ich stark infizierte *Adoxa*-Pflanzen; es erschienen aber auf denselben im Frühjahr 1904 und 1905 keine *Aecidien*.

Das *Aecidienmycel* zu *Puccinia argentata* perenniert also nicht, sondern es müssen die *Adoxa*-Pflanzen jedes Jahr von neuem infiziert werden.

Man kann daraus auch fast mit voller Sicherheit annehmen, daß auch bei *Pucc. albescens* und *Pucc. Adoxae* die Mycelien nicht perennieren.³⁾

2. *Aecidien* von *Ranunculus auricomus*.

Im II. Berichte l. c. p. 422 habe ich über erfolglose Versuche mit diesem *Aecidium* referiert. Die Versuche wurden im Jahre 1903 auf *Poa nemoralis* gemacht, aber es trat kein Erfolg ein. In dem Berichte machte ich schon damals darauf aufmerksam, daß sich die zuge-

1) I. Bericht s. d. Centralblatt Bd. IX. 1902. p. 913—928. — II. Bericht daselbst Bd. XII. 1904. p. 411—426.

2) l. c. Berlin 1904. Bd. II. No. 4.

3) Siehe auch in dieser Hinsicht E. Fischer, Die Uredineen der Schweiz. Bern 1904. p. 456.

hörige Uredo- und Teleutosporenform wohl auf *Poa pratensis* befinde.

Im Jahre 1904 wiederholte ich die Infektionen auf *Poa annua* und *Poa pratensis*. Die Versuchspflanzen (je zwei Töpfe mit Keimpflanzen) wurden am 22. April mit Aecidiosporen bestreut und darüber noch mit aecidientragenden Blättern belegt und bis zum 25. April unter Glasglocken feucht gehalten.

Am 8. Mai erschienen erst geöffnete Uredo-Lager und zwar nur auf *Poa pratensis* und am 28. Mai waren besonders die untersten Blätter der Versuchspflanzen mit Teleutosporenlagern bedeckt.

Durch diese Versuche wurde also bewiesen, daß das *Aecidium* von *Ranunculus auricomus* zu *Uromyces Poae* auf *Poa pratensis* gehört.

Unterdessen wurden auch von Juel ganz ähnliche Versuche durchgeführt und im „Arkiv för Botanik“ 1905 publiziert.¹⁾

Juel hält den Pilz für eine neue biologische Species, die er *Uromyces pratensis* nennt. Ich halte aber die Art für überflüssig. Wie ich weiter mitteilen werde, gelang es mir, aus Aecidien von *Ranunculus Ficaria* auch *Poa pratensis* zu infizieren. Juel selbst vermutet, daß auch ein *Aecidium* von *Ranunculus repens* auf *Poa pratensis* Uredosporen und Teleutosporen ausbildet. Konsequenz müßten auch die anderen Kombinationen (s. Klebahn)²⁾ spezielle Namen bekommen, wenn es sich zeigen sollte, daß die einzelnen Formen streng spezialisiert sind. So müßte die Stammform *Uromyces Poae* in 6 bis 8 neue Arten zerspalten werden.

Ich bin der Meinung, daß man in solchen Fällen von der spezifischen Trennung und Benennung ablassen muß, höchstens könnte man sie als „formas speciales“ von *Uromyces Poae* auffassen.

3. *Peridermium Pini* (Willd.) f. *corticola*.

Bei Tábor tritt im Pintovkatala dieser Pilz öfters auf. Aus seinem gemeinschaftlichen Vorkommen mit *Vincetoxicum officinale* schloß ich, daß er zu dem pleophagen *Cronartium asclepiadeum* (Willd.) Fr. gehört³⁾.

Die *Peridermium*-Sporen wurden am 30. April auf *Vincetoxicum officinale*, *Asclepias syriaca*, *Impatiens Balsamina*, *Verbena hybrida* und *Pedicularis palustris* ausgesät. Schon am 9. Mai war die Infektion auf *Vincetoxicum* deutlich, indem sich die befallenen Stellen braunrötlich verfärbten und stark glänzend wurden. Am 18. Mai erschienen die ersten geöffneten Uredo-Lager. Die anderen Versuchspflanzen blieben pilzfrei. Merkwürdig ist allerdings der Umstand, daß *Impatiens Balsamina* in meinen Versuchen nicht infiziert wurde, während Klebahn l. c. eine reichliche Infektion bekam.

Ich wiederholte die Versuche mit diesen gesund gebliebenen Pflanzen am 23. Mai nochmals und zog dazu noch zwei Individuen von *Impatiens Balsamina* herbei. Auch diese Versuche fielen negativ aus.

Pedicularis palustris wurde zu diesen Versuchen direkt am Standorte in Töpfe gepflanzt und erhielt sich unter den Glasglocken über

1) Juel, Das *Aecidium* auf *Ranunculus auricomus* und seine Teleutosporenform. (l. c. Bd. IV. Nr. 16.)

2) Klebahn, Die wirtswechselnden Rostpilze p. 324 und Zeitschrift f. Pflanzenkr. Bd. XV. 1905. p. 74.

3) E. Fischer in Berichte d. schweiz. bot. Gesellschaft. XI. 1901. p. 1—4. Sep. Klebahn, in Zeitschr. f. Pflanzenkr. Bd. XV. 1905. p. 83—85.

einen Monat lang ganz frisch, während sie unbedeckt schon in einigen Tagen zu Grunde ging.

4. *Aecidium Seseli* Niessl in genetischer Verbindung mit *Uromyces graminis* Niessl.

Im Jahre 1902 entdeckte ich diesen seltenen *Uromyces* auf *Melica ciliata* auf den Lehnen zwischen Kuchelbad und Radotin bei Prag. Auf der Lokalität trat besonders *Seseli glaucum* hervor. Da von dieser Pflanze ebenfalls von Niessl ein *Aecidium* beschrieben war, so lag die Vermutung, das beide Pilze genetisch verbunden sein könnten, sehr nahe.

Die Versuche wurden mit dem Materiale, welches am 28. November 1903 gesammelt war, am 12. Mai 1904 durchgeführt. Die Teleutosporen keimten in feuchten Kammern energisch und produzierten binnen 24 Stunden zahlreiche Sporidien.

Da sich die Teleutosporenlager auf der eingerollten inneren Fläche der Blätter befanden, wurden die Blätter zuerst der Länge nach gespalten und erst dann auf Keimpflanzen von *Seseli glaucum* aufgelegt und die Pflanzen in 5 Töpfchen bis zum 16. Mai unter den Glasglocken feucht gehalten.

Am 22. Mai erschienen Spermogonien, am 1. Juni waren schon die *Aecidien* entwickelt, aber die Pseudoperidien noch geschlossen.

Mit den erzogenen *Aecidien* wurden am 10. Juni junge Keimpflanzen von *Melica ciliata* infiziert. Der Erfolg zeigte sich am 1. Juli in Form zahlreicher Uredolager auf den Blättchen.

Durch diese Versuche wurde also festgestellt, daß *Aecidium Seseli* Niessl von *Seseli glaucum* zu *Uromyces graminis* Niessl auf *Melica ciliata* gehört.

Nach E. Fischer¹⁾ gehört hierher auch das *Aecidium* von *Laserpitium Siler*, was allerdings noch experimentell bestätigt werden muß.

Ich habe auch mit *Foeniculum officinale* Versuche angestellt, leider gingen die Pflanzen bald nach der Infektion zu Grunde. Sie ertragen die feuchte Luft längere Zeit nicht

5. *Puccinia Polygoni amphibii* Pers.

Von Tranzschel²⁾ wurde bewiesen, daß *Aecidium sanguinolentum* Lindr. mit der obengenannten *Puccinia*-Art genetisch verbunden ist. Bei seinen Versuchen gelang es ihm, mit den Sporidien auf *Geranium pratense* und *palustre* *Aecidien* zu züchten. Da Tranzschel seine Versuche im Freien durchführte, so war eine Wiederholung derselben unter Glasglocken erforderlich.

Am 18. Mai wurden mit teleutosporentragenden Blättern von *Polygonum amphibium* je zwei Topfpflanzen von *Geranium phaeum*, *palustre* und *pratense* belegt.

Auf *Geranium pratense* erschienen am 24. Mai Spermogonien, am 3. Juni *Aecidien*, auf *Geranium palustre* erst am 7. Juni Spermogonien und später *Aecidien*. Die Infektion dieser letztgenannten Pflanze war sehr gering, obzwar das Infektionsmaterial bei allen Versuchsnummern gleich reich war. *Geranium pratense* war dagegen ganz infiziert, denn alle Blätter, Blattstiele und Stengel waren von

1) Fischer, E., Die Uredineen der Schweiz. p. 544.

2) Travaux de Musée bot. de l'Ac. imp. sc. de St. Petersburg. Livr. II. 1904. p. 28 und dieses Centralbl. Bd. XI. 1903. p. 106.

Aecidien voll bedeckt. Klebahn¹⁾ erhielt bei seinen Versuchen im Jahre 1904 auch auf *Geranium affine*, *phaeum* und *molle* positiven Erfolg.

Mit den erzeugten Aecidiosporen von *Geranium pratense* wurden zwei in Töpfe versetzte *Polygonum amphibium*, forma *terrestre*, am 16. Juni bestreut. Am 23. Juni erschienen auf beiden Versuchspflanzen zahlreiche Uredosporen, denen später Teleutosporen folgten.

Hierdurch wurde die von Tranzschel entdeckte Konnexion zwischen *Aecidium sanguinolentum* und *Puccinia Polygóni amphibii* bestätigt.

6. Infektionsversuche mit *Puccinia punctata* Link (Pucc. Galii Autt.).

Schon im Jahre 1903 habe ich²⁾ mittels Infektionsversuchen gezeigt, daß durch die Sporidien und Aecidiosporen der betreffenden *Puccinia*-Art von *Galium silvaticum* andere *Galium*-Spezies, speziell *Galium mollugo* und *Gal. verum* nicht infiziert werden konnten.

Im Jahre 1904 wurden diese Versuche fortgesetzt und zwar mit überwinterten Teleutosporen von allen drei genannten Arten.

1) Am 18. Mai wurden keimende Teleutosporen von *Galium silvaticum* auf einige Keimpflanzen von *Galium silvaticum*, *mollugo* und *verum* ausgesät. Am 29. Mai erschienen auf *Galium silvaticum* Pykniden, am 5. Juni zuerst *Uredo*-Häufchen und erst am 9. Juni vereinzelt Aecidien aus demselben Mycel, aus welchem *Uredo*-Lager entstanden sind. Oft blieb die Bildung der Aecidien gänzlich aus, was ich besonders an den Achsen der Aeste beobachten konnte.

Galium mollugo und *verum* blieben pilzfrei.

2) Mit Teleutosporenmaterial von *Galium verum* und *mollugo* wurden Versuche am 11. Juni durchgeführt.

Bei der Infektion mit Teleutosporen von *Galium mollugo* wurden nur *Galium mollugo* (Pykniden 22., Aecidien 29. Juni) und *Galium verum* (Pykniden 20., Aecidien 27. Juni) erfolgreich infiziert. *Galium silvaticum* blieb pilzfrei.

Sporidien von *Galium verum* brachten ebenfalls nur auf *G. verum* (Pykniden 21., Aecidien 27. Juni) und auf *G. mollugo* (Pykniden 21., Aecidien 26. Juni) positiven Erfolg hervor.

Auf *G. silvaticum* verlief der Versuch wieder negativ.

Aus den angeführten Versuchen ergibt sich, daß die Form auf *Galium silvaticum* biologisch von den Formen auf *Gal. mollugo* und *verum* abweicht und zwar in zwei Hinsichten:

1) Sie läßt sich nicht auf die genannten *Galium*-Arten übertragen.

2) Sie bildet bei den Infektionsversuchen aus demselben Mycel zuerst *Uredo* und erst nachdem und zwar nur spärlich Aecidien.

Allerdings habe ich in freier Natur hier bei Tábor, wo die *Puccinia* massenhaft auf *Galium silvaticum* vorkommt, nur selten nach den Pykniden *Uredo* folgen gesehen, sondern es entwickelten sich zuerst Aecidien und erst darnach aus demselben Mycel rings um die Aecidien *Uredolager* oder aber beide Sporenformen zugleich.

Ich konnte auch bei *Puccinia punctata* auf anderen *Galium*-

1) Klebahn, Zeitschr. f. Pflanzenkr. Bd. XV. (1905). p. 70—73.

2) Dieses Centralbl. Bd. XII. 1904. p. 421—422.



Arten (*verum, mollugo*) konstatieren, daß sich aus dem sporidiengeborenen Mycel zugleich mit den Aecidien *Uredo*-Lager entwickeln. Sie sind viel größer als diejenigen, welche später entstehen, befinden sich auf beiden Seiten der Flecke, oft in kreisförmiger Anordnung um die Aecidien und fließen dann öfters ringförmig zusammen.

Auch bei meiner unlängst beschriebenen *Puccinia coëtonea*¹⁾ von *Asperula galioides* entwickeln sich aus dem sporidiengeborenen Mycel anfangs zugleich alle drei (*Aec.*, *Uredo*, *Teleute*) Sporenformen in selbständigen, dicht gruppierten Lagern, und erst später entstehen zerstreute *Uredo*-Lager. Dieselben Verhältnisse findet man auch bei *Puccinia ambigua* (*A. et Schw.*) Lagerh., wo mit den Aecidien zugleich aus demselben Mycel *Teleutosporenlager* sich bilden.

Dieses interessante biologische Verhalten der angeführten wie auch gewiss noch anderer Rubiaceen bewohnenden Puccinien zeigt auf einen einheitlichen Ursprung dieser Arten, was auch durch die gleiche Form der *Teleutosporen* dokumentiert wird. Parallel mit mir wurden auch von Wurth²⁾ Infektionsversuche mit *Puccinia punctata* auf *Galium*- und *Asperula*-Arten durchgeführt und ich verweise hier auf seine Resultate.

Was *Pucc. Galii silvatici* Otth. betrifft, so wird ihre Selbstständigkeit, die, wie Wurth zeigte, auch auf morphologischen Unterschieden basiert, durch Wurths und meine Versuche bestätigt.

Endlich mache ich noch auf meine Infektionsversuche mit *Aecidiosporen* von *Puccinia Galii silvatici* Otth. auf *Galium silvaticum* aufmerksam.

Am 7. Juni bestreute ich zwei Topfpflanzen der genannten *Galium*-Art mit zahlreichen *Aecidiosporen* und belegte sie noch mit zahlreichen *acidientragenden* Blättern. Die Versuchspflanzen blieben 4 Tage unter Glasglocken. Es erschien aber kein Erfolg, die Pflanzen blieben bis zum Winter pilzfrei.

Dies Verhalten ist merkwürdig und es könnte vielleicht mit der Fähigkeit des Pilzes, aus dem sporidiengeborenen Mycel *Uredo*-Lager zu bilden, ja auch das Aecidienstadium zu überspringen, in Einklang gebracht werden. Die Sache muß allerdings noch weiter verfolgt werden, da die Zahl der durchgeführten Infektionen nur klein ist. Wurth führte seine Versuche mit Blättern, welche Aecidien und *Uredo*-Lager trugen, aus.

7. Wiederholung der Infektionen mit *Calyptospora Goepfertiana* Kühn.

Daß zu dieser *Melampsoracee* *Aecidium columnare* Kühn gehört, wurde von Hartig und Kühn durch künstliche Infektionen festgestellt.

Die Wiederholung der Versuche war zwar nicht nötig, aber doch wünschenswert.

Teils mit künstlich, teils mit im Freien überwintertem *Teleutosporenmaterial* von *Vaccinium Vitis Idaea* wurden Infektionen auf *Abies alba* durchgeführt.

1) Bubák, Fr., Beitrag zur Kenntnis einiger Uredineen. (*Annales Mycol.* III. 1905. p. 218—219.)

2) Wurth, Th., Kulturvers. mit *Pucc.* vom Typus d. *Pucc. Galii* (Pers.). (*Diese Centralbl.* Bd. XII. 1904. p. 713 und Bd. XIV. 1905. No. 6/7.)

Das Infektionsmaterial wurde am 28. Mai in Petri-Schalen auf feuchtes Filtrierpapier gelegt und zur Keimung gebracht. Am 30. Mai wurden kleine Stengelstückchen mit keimenden Teleutosporen auf die Tannennadeln gelegt. Am 1. Juli erschienen auf den Nadeln bei den infizierten Tannen (*Abies pectinata*) kleine Aecidienpusteln und am 7. Juli geöffnete Pseudoperidien. Pykniden entwickelten sich keine.

Hierdurch wurden also die Versuche von Hartig und Kühn bestätigt.

8. *Pucciniastrum Chamaenerii* Rostrup.

In Sydows Uredineen No. 1840 und Vestergrens Mikromycetes rariores No. 754 teilte ich im Jahre 1903 ein *Aecidium* als zu *Calyptospora* gehörig aus.

Dieses *Aecidium* kommt hier bei Tábor in einem Walde massenhaft vor unweit von *Calyptospora*, aber auch in Gesellschaft mit dem genannten *Pucciniastrum*, was ich aber erst im Jahre 1904 bemerkte.

Um die Zugehörigkeit festzustellen, führte ich mit diesen Aecidiosporen am 17. Juni Infektionen auf *Vaccinium Vitis Idaea* und *Epilobium angustifolium* aus. Am 26. Juni erschienen auf beiden *Epilobium* Individuen reichliche Uredo-Lager, nur *Vaccinium* blieb pilzfrei auch im Jahre 1905.

Die betreffenden Exsiccata sind deshalb als *Pucciniastrum Chamaenerii* Rostrup zu bezeichnen.

9. Infektionsversuche mit *Melampsorella Symphyti* (DC.) Bubák.

Im Jahre 1903 habe ich gezeigt¹⁾, daß *Melampsorella Symphyti* seine Aecidien auf *Abies pectinata* ausbildet.

Auch im Jahre 1904 habe ich öfter aus den Teleutosporen auf den Tannennadeln Aecidien gezüchtet.

Z. B. Infektion Nr. 1 und 2 am 6. Mai. Pykniden am 22. Mai, später Aecidien.

Nr. 3 und 4 am 10. Mai. Pykniden ebenfalls am 22. Mai.

Weitere Infektionen wurden mit Uredosporen durchgeführt. Am 25. Mai wurden Uredosporen von *Symphytum tuberosum* auf zwei Individuen von *Symph. officinale* reichlich übertragen. Es erschien aber auf den infizierten Pflanzen kein Erfolg. Auch der zweite Versuch vom 15. Juni fiel negativ aus.

Infektionen mit Aecidiosporen wurden schon im Jahre 1903 durchgeführt und zwar mit gezüchtetem Materiale als auch mit spontan entstandenen. Die Versuchspflanzen gingen immer bald zu Grunde.

Im Jahre 1904 habe ich zu diesen Versuchen kräftige und in schöner Entwicklung stehende Pflanzen herbeigezogen.

Die Versuche wurden am 17. Juni begonnen mit je 4 Pflanzen von *Symphytum officinale* und *Symph. tuberosum*. Ihre Blätter wurden mit Aecidiosporen bestreut und mit zahlreichen aecidientragenden Nadeln belegt.

Am 27. Juni wurden diese Versuche auf anderen Pflanzen wiederholt.

Es blieben aber alle Versuchspflanzen pilzfrei.

Aus diesen Versuchen geht hervor:

1) Dieses Centralbl. Bd. XII. 1904. p. 423.

1) Die Uredosporen von *Symphytum tuberosum* können *Symph. officinale* nicht infizieren.

2) Die Aecidiosporen, welche bei der Infektion aus den Teleutosporen von *Symph. tuberosum* entstanden sind, können die Blätter von *Symph. tuberosum* und *S. officinale* nicht infizieren, so daß man voraussetzen muß, daß die Infektion auf einem anderen Wege (z. B. durch das Rhizom) erfolgt oder daß sie erst im nächsten Jahre sichtbar wird.

Es war mir nicht möglich, diese Fragen im Jahre 1905 zu lösen und erst in diesem Jahre werde ich die Versuche wieder in die Hand nehmen.

10. *Hyalopsora Polypodii Dryopteridis* (Mong. et Nest) Magnus.

Dieser Pilz ist bei Tábor verbreitet und bildet alljährlich zur Zeit der Sporidienentwicklung schneeweiße Anflüge auf der Unterseite der befallenen Wedel.

Mit solchen Wedeln, die massenhaft Sporidien bildeten, wurden am 23. Mai je zwei *Abies Picea*, *pectinata* und *Pinus silvestris* belegt. Am 31. Mai wurden die Versuche auf anderen Individuen aller drei Nadelhölzer wiederholt. In beiden Fällen standen die Versuchspflanzen 4 Tage unter den Glasglocken.

In beiden Versuchsreihen erschien aber auf keiner Pflanze weder im Jahre 1904 noch im Jahre 1905 irgend ein Erfolg.

Daß sich die Aecidiengeneration auf Nadelhölzern entwickelt, ist fast gewiß; man muß daher voraussetzen, daß ihr Sitz die Fruchtschuppen sind.

1905.

1. Versuche mit einem *Aecidium von Ranunculus bulbosus*.

Anfangs Mai 1904 fand ich hier mehrfach Aecidien auf der genannten *Ranunculus*-Art und unternahm mit denselben Infektionen auf *Dactylis glomerata*, *Anthoxanthum odoratum* und *Poa pratensis*. Die Versuche fielen negativ aus.

Im Jahre 1905 wiederholte ich die Versuche auf *Dactylis glomerata*, *Poa pratensis* und *Poa nemoralis* noch einmal, aber wieder ohne Erfolg.

Ich vermutete daher, daß es sich in diesem Falle um ein *Aecidium* zu *Uromyces Festucae* Sydow handle und durchführte deshalb neue Infektionen auf *Festuca ovina* und *Festuca rubra*, die hier allgemein verbreitet sind.

Die Versuchspflanzen stammten aus dem botanischen Garten und waren völlig pilzfrei. Am 8. Mai wurden sie mit Aecidiosporen bepinselt und außerdem noch aecidientragende Blätter über ihnen aufgehängt.

Die Versuchspflanzen wurden 4 Tage unter den Glasglocken feucht gehalten. Die Aecidien keimten ziemlich langsam, denn in feuchten Kammern trieben sie die Keimschläuche erst in 48, ja in einer anderen Nummer erst in 60 Stunden aus.

Das Resultat der Infektion erschien nur auf *Festuca ovina* und zwar am 27. Mai in Form geöffneter Uredo-Lager, denen schon am 30. Mai Teleutosporenlager folgten.

Die Teleutosporenlager entstanden immer aus demselben Mycel wie

Uredo-Lager und bildeten um dieselben unvollkommene Ringe, die aus 2—4 Lagern bestanden.

Festuca rubra blieb pilzfrei.

In letzter Zeit wurden zwei *Uromyces* von den genannten *Festuca*-Arten beschrieben. Die eine stellte Sydow¹⁾ als *Uromyces Festucae* von *Festuca rubra* auf, die andere wurde von Jaap²⁾ als *Uromyces Ranunculi-Festucae* von *Festuca ovina* ausgegeben. Zu ihr soll nach dem Autor auch ein *Aecidium* von *Ranunculus bulbosus* gehören, was aber durch keine Versuche dokumentiert ist. Jaap meint, daß beide Arten identisch sind. Das ist aber nicht der Fall, wie ich sogleich beweisen werde.

Zuerst muß ich konstatieren, daß der von mir erzogene Pilz mit *Uromyces Festucae* Sydow identisch ist.

Zu seiner Beschreibung bemerke ich folgendes: In dem Aecidienstadium konnte ich keine Unterschiede zwischen den Aecidien zu *Urom. Poae* und *Urom. Dactylidis* von verschiedenen *Ranunculus*-Arten konstatieren.

Die Uredo-Lager befinden sich auf der Oberseite (auch auf Sydows Exsikkaten) und nicht auf der Unterseite, wie in der Original-Diagnose angegeben ist. Die Uredosporen sind variabel in der Form, kugelig, eiförmig bis ellipsoidisch, oft dabei polygonal, 20—33 μ lang, 17,5 bis 22 μ breit.

Teleutosporenlager ebenfalls auf der Blattoberseite, oft ringförmig um ein Uredo-Lager stehend; Sporen 24—33 μ lang, 15,5—22 μ breit, von braunen verklebten Paraphysen umgeben und auch durch dieselben in kleinere Gruppen geteilt.

Die Paraphysengruppen sind gewöhnlich fest der Epidermis angewachsen und werden oft bei Verfertigung mikroskopischer Schnitte mit derselben aus den Lagern herausgerissen. Dies geschieht oft auch dann, wenn sich die Epidermis spontan abhebt. Manchmal bilden diese Paraphysen ziemlich hohe Säulchen, durch welche die Lager in zwei Abteilungen getrennt werden.

Ähnliche Paraphysen besitzen auch *Uromyces Ranunculi-Festucae*, *Urom. Poae* und *Urom. Dactylidis*, was allen Autoren bisher entgangen ist, obzwar man schon per analogiam mit den Ranunculaceen-Uredineen auf das Vorhandensein derselben schließen könnte.

Die erwähnte Säulenbildung tritt besonders bei der Jaapschen Art hervor, was vielleicht von der Verteilung der mechanischen Gewebe in den Blattspreiten abhängt.

Sydow sammelte seinen Pilz auf *Festuca rubra*, ich erzog ihn auf *Festuca ovina*.

Uromyces Ranunculi-Festucae Jaap ist von *Uromyces Festucae* verschieden, was eigentlich schon aus den Diagnosen beider Pilze klar hervorgeht. Die Unterschiede liegen in der Form der Uredosporen und in der Größe der Teleutosporen.

Bei *Urom. Festucae* Sydow sind die Uredosporen variabel in der

1) Sydow, H. et P., *Hedwigia* Bd. XXXIX. 1900. p. 117 und in *Uredin. exsicc.* No. 356, in *Mycoth. germ.* No. 356.

2) Jaap, O., *Abh. d. bot. Ver. Brandenburg.* Bd. XLVII. 1905. p. 90 und in *Fungi sel. ex.* No. 91.

Form, kugelig, eiförmig, elliptisch und dabei öfters polygonal, während bei *Urom. Ranunculi-Festucae* Jaap die kugeligen überwiegen.

Die Teleutosporen sind bei erster Species kürzer als bei der letztgenannten Art, wie aus diesen Angaben (Mikrometerteile) hervorgeht:

| Urom. Festucae Syd. | | Urom. Ran.-Festucae Jaap | |
|---------------------|--------|--------------------------|--------|
| Länge | Breite | Länge | Breite |
| 14 | 8 | 16 | 7 |
| 13 | 7 | 11 | 8 |
| 14 | 7,5 | 18 | 9 |
| 12 | 8 | 15 | 10 |
| 14 | 9 | 18 | 8 |
| 15 | 10 | 17 | 9 |
| 20—23 μ × | | 24—40 μ × | |
| 15,5—22 μ | | 15,5—22 μ | |

2. Versuche mit einem *Aecidium* von *Ranunculus Ficaria*.

Wie bekannt, hat Tranzschel¹⁾ bewiesen, daß zu *Uromyces Rumicis* ein *Aecidium* von *Ranunculus Ficaria* gehört. Eine Wiederholung diesbezüglicher Versuche ist sehr notwendig.

Am 13. Mai wurden je zwei Individuen von *Rumex obtusifolius* (aus dem botanischen Garten übersetzt), *Poa pratensis* und *Poa palustris* (Keimpflanzen) mit *Aecidiosporen* von *Ranunculus Ficaria* aus hiesiger Gegend bestreut und mit *aecidientragenden* Blättern belegt.

Am 28. Mai erschienen offene *Uredolager* nur auf *Poa pratensis*.

Durch diese Versuche wurde also bewiesen, daß *Aecidien Ficariae* auch zu *Uromyces Poae* auf *Poa pratensis* gehört.

Schon Schroeter²⁾ hat bei seinen Versuchen aus diesen *Aecidien* auf *Poa nemoralis* den *Uromyces* erzogen.

Wie aus allen Versuchen, die bisher mit *Uromyces Poae* und den betreffenden *Ranunculaceen-Aecidien* durchgeführt wurden, hervorgeht, herrscht bei diesem Rostpilze eine sehr große Spezialisierung.

3. *Uromyces Alchemillae* (Pers.) Lév.

Die biologischen Verhältnisse dieser Species sind immer noch nicht gänzlich erklärt.

Ich habe schon im Jahre 1903, 1904 und 1905 mit ihnen zahlreiche Versuche angestellt, die alle ohne Erfolg waren. Es gelang mir nicht einmal, die Teleutosporen zur Keimung zu bringen. Auch die Infektionen mit *Uredo-* und *Teleutosporen* blieben auf den Blättern immer erfolglos.

4. *Pucciniastrum Circaeae* (Schum.) Schroeter.

Im Herbst des Jahres 1904 gesammelte *Teleutosporen* dieser *Melampsoraceae* wurden in Säckchen überwintert.

Am 15. Mai wurden Keimversuche in feuchten Kammern eingeleitet und zwar in der Weise, daß mikroskopische Schnitte in hängende Tropfen gelegt wurden. Erst am 30. Mai entwickelten sich *Promycelien* und tags darauf bemerkte ich vereinzelt *Sporidien*.

Infektionsversuche wurden am 2. Juni auf jungen *Abies picea*, *pectinata* und *Pinus silvestris* vorgenommen. Die Versuchs-

1) Tranzschel, *Travaux du Mus. bot. de l'Ac. imp. d. sc. de St. Pétersbourg*. Livr. II. 1905. p. 71—73.

2) Schroeter in *Cohns Beiträgen zur Biologie der Pflanzen*. III. p. 64.

pflanzen standen 4 Tage unter Glasglocken. Auf den Versuchspflanzen konnte aber bis jetzt keine Infektion bemerkt werden.

Ich vermute deshalb, daß entweder die Pflanzen zu kurz unter den Glasglocken standen oder daß sich die Aecidien auf Zapfenschuppen entwickeln.

5. *Pucciniastrum Epilobii* (Pers.) Otth.

In Säckchen überwinterte Teleutosporen dieses Pilzes, welche hier massenhaft im Jahre 1904 vorkamen, wurden am 15. Mai 1905 in derselben Weise wie bei der vorangehenden Art auf die Keimkraft untersucht.

Ebenfalls erst nach 14 Tagen bemerkte ich auf einigen Schnitten typische Promycelien mit orangegelben Oeltropfen. Zur Bildung der Sporidien kam es jedoch nicht, nur hie und da entstanden an den Promycelien seitliche Ausstülpungen.

Die Infektionsversuche wurden am 7. Juni eingeleitet, indem je zwei Individuen von *Abies picea*, *pectinata* und *Pinus silvestris* infiziert und 4 Tage unter Glasglocken belassen wurden.

Alle Versuchspflanzen sind aber bis jetzt gesund.

Larix decidua zog ich bei diesem und vorangehendem Versuche zur Infektion nicht herbei, da auf den Lokalitäten der Pilze (beide etwa nur 50 Schritte voneinander entfernt) dieser Baum weit und breit fehlt.

Man muß also ebenso wie bei der vorangehenden Art annehmen, daß entweder die Versuchspflanzen zu kurze Zeit unter den Glocken gehalten wurden oder daß sich die Aecidien auf den weiblichen Fruchtschuppen entwickeln.

Nachdruck verboten.

Experimentelle Untersuchungen über schweizerische Weidenrostpilze.

Von **Otto Schneider**, Bern.

(Schluß.)

Versuchsreihe XXVI.

Eine Nachprüfung des letzten Versuchs nahm ich mit Teleutosporen auf der Blattunterseite von *Salix grandifolia* am 11. Mai 1905 vor. Dieses Material stammte vom gleichen Standort her, wie dasjenige in XXV, nur wurden diesmal aufs genaueste alle Blätter mit *Melampsora Larici-Capraearum* ausgeschlossen. Da zu der Zeit, als ich XXV einleitete, meine Versuchsexemplare von *Ribes nigrum* noch keine Blätter entfaltet hatten, so sollte jetzt auch das Verhalten des Pilzes zu dieser Nährpflanze geprüft werden.

XXVI 1 u. 2 *Ribes nigrum*,
3 *Larix decidua*,
4 u. 5 *Ribes alpinum*.

13. Mai. Der Objektträgerversuch zeigt reichliche Teleutosporenkeimungen.

22. Mai. *Ribes alpinum* 4 weist eine Infektionsstelle auf.

6. Juni. *Ribes alpinum* 4 besitzt große *Caeoma*-Lager auf

der Blattunterseite. *R. alpinum* 5 eine große Infektionsstelle von 1 cm Länge an einem Blattstiel. Sie scheint in der Mitte abgestorben zu sein, während an der Peripherie noch Pykniden auftreten. *Larix* und die zwei Exemplare von *Ribes nigrum* sind ganz gesund.

Ergebnis der Versuchsreihen XXV und XXVI.

Die *Melampsora* auf der Blattunterseite von *Salix grandifolia* am Creux-du-Van bildet ihr *Caeoma* auf *Ribes alpinum*. Sie befällt nur schwach *Ribes aureum* und *sanguineum* und gar nicht *R. grossularia*, *nigrum* und *rubrum*, *Evonymus europaeus* und *Larix decidua*.

b) Infektionsversuche mit *Caeoma*- und *Uredosporen*.

Versuchsreihe XXVII.

Herr Prof. Dr. Ed. Fischer fand im Sommer 1903 am Creux-du-Van (Kt. Neuenburg) reichliche *Caeoma*-Lager auf *Ribes alpinum*. Um die entwicklungsgeschichtlichen Verhältnisse des betreffenden Pilzes aufzuklären, sammelte ich am 29. Juni 1904 an jener Stelle die spärlichen Lager, die in dieser vorgerückten Jahreszeit noch vorhanden waren. Es wurde damit am 30. Juni 1904 eine Versuchsreihe eingeleitet:

| | | | |
|---------|-----------------------|---------|--------------------------|
| XXVII 1 | <i>Salix aurita</i> , | XXVII 5 | <i>Salix nigricans</i> , |
| 2 | „ <i>cinerea</i> , | 6 | „ <i>grandifolia</i> , |
| 3 | „ <i>purpurea</i> , | 7 | „ <i>retusa</i> . |
| 4 | „ <i>incana</i> , | | |

8. Juli. Keine Infektion.

14. Juli. *S. grandifolia* trägt *Uredo*-Lager.

30. Juli. Auf den Blättern von *S. grandifolia* zerstreut finden sich 10 kleine *Uredo*-Lager vor, während alle andern Versuchspflanzen gesund geblieben sind.

An spätern Kontrollversuchen war ich durch Abwesenheit von Bern verhindert.

Versuchsreihe XXVIII.

Um den Kreis der Wirtspflanzen festzustellen und das nicht ganz überzeugende Resultat der letzten Versuchsreihe nachzuprüfen, unternahm ich mit dem *Caeoma*-Material auf *Ribes alpinum* XXV 4 am 17. Mai 1905 eine neue Infektionsreihe:

| | | | |
|----------|--------------------------|----------|--------------------------|
| XXVIII 1 | <i>Salix viminalis</i> , | XXVIII 9 | <i>Salix purpurea</i> , |
| 2 | „ <i>Capraea</i> , | 10 | „ <i>incana</i> , |
| 3 | „ <i>aurita</i> , | 11 | „ <i>nigricans</i> , |
| 4 | „ <i>cinerea</i> , | 12 | „ <i>grandifolia</i> , |
| 5 | „ <i>amygdalina</i> , | 13 | „ <i>elegantissima</i> . |
| 6 | „ <i>alba</i> , | 14 | „ <i>dasyclados</i> , |
| 7 | „ <i>fragilis</i> , | 15 | „ <i>Russeliana</i> , |
| 8 | „ <i>daphnoides</i> , | | |

30. Mai. *S. grandifolia* zeigt mehrere gelblich verfärbte Stellen, die ich als im Entstehen begriffene *Uredo*-Lager deute. *S. aurita* trägt an einem Blatt auf der Unterseite 2 *Uredo*-Lager.

5. Juni. Auf *S. grandifolia* zähle ich 21 zerstreute *Uredo*-Lager. *S. aurita* besitzt 2 größere Infektionsflecken, von denen der eine 2, der andere 3 mm im Durchmesser mißt.

24. Juni. *Salix grandifolia* trägt 53 *Uredo*-Lager, das am stärksten befallene Blatt deren 13.

Auf *S. aurita* hat die Infektion kaum Fortschritte gemacht.

S. arbuscula weist zwei Flecken auf.

1. Juli. Auf *S. grandifolia* greift die Infektion langsam aber beständig weiter. Die Uredo-Lager sind von einer verfärbten Blattpartie umgeben und finden sich meist einzeln, seltener 8—10 zu einer Gruppe vereinigt. Auf *S. aurita* ist die Zahl der Lager seit 4 Wochen ungefähr die gleiche geblieben. *S. arbuscula* trägt 2 Uredo-Lager. Alle andern Versuchspflanzen sind vollständig pilzfrei.

Weitere Kontrollen am 8. Juli und 26. August zeigen ebenfalls Uredo auf *S. grandifolia*; am 13. Oktober sind noch Teleutosporen und spärliche Uredo-Lager vorhanden.

Auffällig ist in diesen beiden Versuchsreihen die langsame Uredo-Bildung auf *Salix grandifolia*. Diese Erscheinung läßt sich verschieden deuten:

a) Entweder ist sie eine Eigentümlichkeit der betreffenden Weidenart, wodurch alle auf ihr parasitierenden Pilze im Sinne einer langsamen Entwicklung beeinflußt werden, oder

b) sie ist eine Eigentümlichkeit des betreffenden Pilzes. Dagegen spricht die Tatsache, daß auch *Melampsora Larici-Capraearum* Kleb., die ihre Teleutosporen ebenfalls in großer Menge auf *S. grandifolia* zu bilden vermag (siehe Versuchsreihe XXXIII), auf dieser Nährpflanze — und nur hier — die gleiche langsame Uredo-Bildung aufweist.

c) Gegen die Annahme, daß der Kälterückschlag vom Mai 1905 schuld sei, spricht der Umstand, daß die erwähnte Versuchsreihe mit *Melampsora Larici-Capraearum* im Juni unter günstigen Temperaturbedingungen eingeleitet wurde und dennoch auf *Salix grandifolia* nur eine langsame Uredo-Entwicklung zeigte.

Mir scheint es am leichtesten, die Erklärung unter a mit den Tatsachen in Einklang zu bringen.

Ergebnis der Versuchsreihen XXVII und XXVIII.

Melampsora Ribesii-Grandifoliae infiziert *Salix grandifolia* stark, *S. aurita* mittelstark, *S. arbuscula* ganz schwach und gar nicht *S. viminalis*, *Capraea cinerea*, *amygdalina*, *alba*, *fragilis*, *daphnoides*, *purpurea*, *incana*, *nigricans*, *elegantissima*, *dasyclados*, *retusa* und *Russeliana*. Ihr biologisches Verhalten ist sowohl in der Caeoma- wie auch in der Uredo-Generation ein von allen bisher beschriebenen *Melampsoren* verschiedenes (siehe Tabelle 4).

6. *Melampsora Larici-Capraearum* Kleb¹⁾.

Für diese von Klebahn zuerst experimentell untersuchte *Melampsora* gelang es mir, mit schweizerischem Infektionsmaterial einige neue biologische Eigentümlichkeiten nachzuweisen.

In den Versuchen Klebahns, die mit norddeutschem und englischem Infektionsmaterial durchgeführt wurden, konnte festgestellt werden, daß *Salix Capraea* immer stark, *S. aurita* schwächer befallen wird, während *S. cinerea* und *viminalis* gegen diesen Pilz immun zu sein scheinen. Teleutosporen von *Salix Smithiana* Willd. hatten allerdings auf *S. Capraea*²⁾ nur einen verhältnismäßig schwachen Erfolg, so daß

1) Klebahn, Kulturversuche. VI.

2) Klebahn, Kulturversuche. XII.

Klebahn die Frage offen läßt, ob nicht auch hier eine Spezialisierung nachgewiesen werden könnte.

Es sei noch hervorgehoben, daß *Melampsora Larici-Capraearum* sich von allen bisher behandelten Formen auch morphologisch durch die von einem auffälligen Keimporus durchbrochene, stark verdickte Membran des Teleutosporenscheitels unterscheidet.

Es stand mir Versuchsmaterial verschiedener Herkunft zur Verfügung: a) Teleutosporen auf *Salix Capraea* und b) Teleutosporen auf *S. grandifolia*.

a) Infektionsversuche mit Teleutosporen auf *Salix Capraea*.

Versuchsreihe XXIX.

Am 16. November 1903 sammelte mir mein Vater in der Umgebung Hofwils Teleutosporen auf der Blattoberseite von *Salix Capraea*, die leicht als zum Typus der *Melampsora Larici-Capraearum* Kleb. gehörig erkannt wurden. Am 18. Mai 1904 wurde damit eine Versuchsreihe eingeleitet:

- XXIX 1—4 *Larix decidua*,
 5 u. 6 *Abies pectinata*,
 7 u. 8 *Evonymus europaeus*,
 9 *Ribes sanguineum*.

Versuchspflanzen XXIX 5 u. 6 wurden im Hinblick auf *Melampsora Abieti-Capraearum* Tubeuf¹⁾ herbeigezogen.

Der Objektträgerversuch zeigte am folgenden Tage reichliche Keimungen.

8. Juni. Alle Lärchen sind stark infiziert, XXIX 2 sehr stark, während *Abies*, *Evonymus* und *Ribes* vollständig pilzfrei bleiben.

Versuchsreihe XXX.

Ein ganz übereinstimmendes Resultat erzielte ich im folgenden Jahre mit Teleutosporen auf *Salix Capraea*, die Fräulein Mathilde Orelli im Oktober 1904 bei Weyermannshaus (Bern) fand. Am 27. Mai 1905 legte ich dieses Material auf junge Blätter von:

- XXX 1 u. 2 *Larix decidua*,
 3 *Evonymus europaeus*.

Die reichlichen Sporenkeimungen auf der Blattoberfläche riefen auf den beiden Lärchen nach 9 Tagen viele Pykniden und bis zum 10. Juni auf XXX 2 *Caeoma* hervor.

26. Juni. Beide *Larix* sind äußerst stark mit *Caeoma*-Lagern besetzt. *Evonymus* bleibt dauernd gesund.

Versuchsreihe XXXI.

Das *Larixcaeoma* aus XXIX diente am 8. Juni 1904 zur Rückinfektion auf Weiden:

- | | |
|-------------------------------|--------------------------------|
| XXXI 1 <i>Salix Capraea</i> , | XXXI 8 <i>Salix purpurea</i> , |
| 2 „ <i>cinerea</i> , | 9 „ <i>glabra</i> , |
| 3 „ <i>aurita</i> , | 10 „ <i>daphnoides</i> . |
| 4 „ <i>alba</i> , | 11 „ <i>amygdalina</i> . |
| 5 „ <i>viminalis</i> , | 12 „ <i>retusa</i> , |
| 6 „ <i>nigricans</i> , | 13 „ <i>herbacea</i> . |
| 7 „ <i>incana</i> , | 14 „ <i>reticulata</i> . |

1) Klebahn, Die wirtswechselnden Rostpilze, p. 419.

17. Juni. Auf *S. Capraea* und *daphnoides* sind je 6 Uredo-Lager vorhanden.

22. Juni. *S. Capraea* trägt 16, *daphnoides* 8, *aurita* 2, *nigricans* und *cinerea* 1 Lager. Das Versuchsexemplar von *S. cinerea* ist fast vertrocknet.

8. Juli. *S. Capraea* ist stark infiziert, *aurita* und *daphnoides* schwach, *nigricans* und *cinerea* scheinen wieder pilzfrei, und die andern Versuchspflanzen sind ganz gesund.

Ergebnis der Versuchsreihen XXIX—XXXI.

Das schweizerische Infektionsmaterial von *Melampsora Larici-Capraearum* ergibt Uebereinstimmung mit Klebahns Versuchen, neu sind nur die spärlichen Infektionen auf *Salix daphnoides*, *cinerea* und *nigricans*.

b) Infektionsversuche mit Teleutosporen auf *Salix grandifolia*.

Wie in XXV erwähnt wurde, trugen die mit *Melampsora Ribesii-Grandifoliae* infizierten Blätter von *Salix grandifolia* (Creux-du-Van) häufig auf ihrer Oberseite eine zweite *Melampsora* vom Typus der *Melampsora Larici-Capraearum*. Es wurde dort dargelegt, daß das *Caeoma* auf *Larix* XXV 1 u. 2 zweifellos von diesem letztern Pilze herrührte.

Um festzustellen, ob sich derselbe biologisch wie *M. Larici-Capraearum* verhalte, wurden einige Versuche ausgeführt.

Versuchsreihe XXXII.

Bei genauerer Durchsicht des Pilzmaterials vom Creux-du-Vau (XXV) fanden sich auch einige Blätter von *Salix grandifolia* die nicht mit *Melampsora Ribesii-Grandifoliae* behaftet waren, dagegen auf der Blattoberseite zahlreiche Teleutosporenlager vom Typus der *M. Larici-Capraearum* trugen. Ich brachte dieselben am 11. Mai 1905 auf:

XXXII 1 u. 2 *Larix decidua*,
3 *Ribes alpinum*.

Der Objektträgerversuch zeigt zahlreiche Keimungen.

22. Mai. *Larix* 1 trägt einige Pykniden.

30. Mai. *Larix* 1 ist außerordentlich stark mit *Caeoma* besetzt, *Larix* 2 trägt zahlreiche Pykniden und weniger *Caeoma*. *Ribes alpinum* ist pilzfrei. Aus der Nichtinfektion von *Ribes* läßt sich mit großer Bestimmtheit der Schluß ziehen, daß das Infektionsmaterial nicht wie in XXV mit *Melampsora Ribesii-Grandifoliae* vermischt war.

Versuchsreihe XXXIII.

Das im vorigen Versuch erhaltene *Caeoma* diente am 30. Mai zur Rückinfektion auf verschiedene Weidenarten:

XXXIII 1 u. 2 *Salix grandifolia*,
3 „ *Capraea*,
4 „ *aurita*,
5 „ *daphnoides*,
6 „ *cinerea*,
7 „ *Hegetschweileri*.

Am 6. Juni war noch kein Erfolg sichtbar.

10. Juni. *S. grandifolia* 1, ein kleines schwächtiges Exemplar

mit 6 Blättern besitzt 3, *S. grandifolia* 2, eine besser ausgebildete Versuchspflanze 12 Uredo-Lager. *S. Capraea* und *S. aurita* weisen schon starke Infektion auf, *S. daphnoides* besitzt 2 Flecken, *cinerea* und *Hegetschweileri* keine. Die von mir nicht infizierten Kontrollpflanzen im Freien sind pilzfrei.

26. Juni. *S. grandifolia* 1 trägt jetzt mehr als 20 Lager, *grandifolia* 2 etwa 50; die Infektion hat also seit der letzten Kontrolle, wenn auch nicht außerordentlich, so doch immerhin bedeutend zugenommen. Schon bei den Versuchen mit *Melampsora Ribesii-Grandifoliae* wurde ja auf die langsame Uredo-Entwicklung auf *Salix grandifolia* aufmerksam gemacht. *S. Capraea* und *S. aurita* sind sehr stark infiziert, *S. daphnoides* mittelstark. Fremdinfection ist hier wenig wahrscheinlich, jedoch nicht vollständig ausgeschlossen. *S. cinerea* und *Hegetschweileri* bleiben pilzfrei.

Immerhin ist eine Wiederholung dieses Versuches wünschenswert.

Versuchsreihe XXXIV.

Uredo auf *Salix Capraea* aus voriger Reihe wurde am 30. Juni 1905 auf folgende Weiden zerstäubt:

| | | | |
|---------|------------------------|---------|------------------------|
| XXXIV 1 | <i>Salix Capraea</i> , | XXXIV 6 | <i>Salix cinerea</i> , |
| 2 u. 3 | „ <i>grandifolia</i> , | 7 | „ <i>nigricans</i> , |
| 4 | „ <i>aurita</i> , | 8 | „ <i>purpurea</i> , |
| 5 | „ <i>daphnoides</i> , | 9 | „ <i>incana</i> . |

Alle diese Versuchspflanzen mit Ausnahme von 2 und 3 stammten aus Reihe XVI, wo sie sich gegen *Melampsora Larici-Reticulatae* seit mehr als 5 Wochen immun erzeugt hatten. Da sie sich während dieser Zeit immer in geschlossenem Raume befanden, so war die Gefahr einer Fremdinfection durch zufliegende Sporen geringer, als bei den im Freien aufgestellten, von mir noch nicht zu Infektionszwecken benutzten Versuchspflanzen.

19. Juli. *Salix Capraea* und *S. aurita* sind beide stark infiziert, viele Blätter tragen auf der Unterseite über und über Uredo. *S. daphnoides* weist spärliche Lager auf. Die beiden *S. grandifolia* sind abgestorben und alle andern Versuchspflanzen bleiben ganz pilzfrei.

Ergebnis der Versuchsreihen XXXII—XXXIV.

Melampsora Larici-Capraearum auf *Salix grandifolia* vom Creux-du-Van stimmt mit der typischen *M. Larici-Capraearum* Kleb. insofern überein, als sie immer wieder am stärksten *Salix Capraea* infiziert. Dagegen befällt dieser Pilz auch *S. aurita* stark und *S. grandifolia* und *daphnoides* mittelstark.

7. *Melampsora Larici-Retusae* f. sp. Ed. Fischer¹⁾.

Haben die im bisherigen geschilderten Infektionsversuche mehr oder weniger neue Tatsachen zu Tage gefördert, so mögen nun auch noch kurz einige andere erwähnt werden, die lediglich schon Bekanntes bestätigen.

Versuchsreihe XXXV.

Im Oktober 1904 sammelte ich auf der Schynigen Platte infizierte

1) Fischer, Ed., Berichte der schweiz. bot. Ges. Heft 14 u. 15. 1904 u. 1905.

Blätter von *Salix retusa*, die am 2. Mai des folgenden Jahres auf zwei Versuchspflanzen aufgelegt wurden.

XXXV 1 und 2 *Larix decidua*.

3. Mai. Der Objektträgerversuch zeigt viele Basidiosporen.

10. Mai. Kein Infektionsresultat sichtbar.

22. Mai. Wenige Pykniden und spärliches *Caeoma* auf 1 und 2.

30. Mai. Beide Lärchen sind stark mit *Caeoma* besetzt.

Versuchsreihe XXXVI.

Unweit des Fundortes der *Melampsora Larici-Reticulatae*, die in XXIV Verwendung fand, auf der Oberhornalp sammelte ich im Herbst 1904 Teleutosporen auf *Salix retusa*. Dieselben dienten am 22. Mai 1905 zur Vornahme einer Versuchsreihe mit:

XXXVI 1 und 2 *Larix decidua*,

3 *Ribes alpinum*,

4 *Saxifraga aizoides*.

23. Mai. Der Objektträgerversuch zeigt auf Blattunter- und Oberseite gekeimte Teleutosporenlager.

30. Mai. Kein Infektionsresultat sichtbar.

6. Juni. *Larix* 1 hat Pykniden und 2 *Caeoma*-Lager, *Larix* 2 viele *Caeoma*-Lager.

9. Juni. Beide Lärchen sind stark mit *Caeoma* besetzt. *Ribes* und *Saxifraga* sind vollständig pilzfrei.

Versuchsreihe XXXVII.

Zur Rückinfektion wurde das *Caeoma* von *Larix* XXXVII 1 und 2 am 6. Juni 1905 mit dem Zerstäuber auf zwei Weiden verteilt:

XXXVII 1 *Salix retusa*,

2 „ *serpyllifolia*.

26. Juni. *S. retusa* ist unten und oben stark infiziert, *S. serpyllifolia* schwächer, ebenfalls auf beiden Blattseiten.

3. Juli. *S. retusa* trägt sehr viele kleine gleichmäßig verteilte Uredo-Lager auf beiden Blattseiten. *S. serpyllifolia* hat zwei größere Infektionsstellen, ist also viel schwächer befallen.

Versuchsreihe XXXVIII.

Die Uredo von *Salix retusa* XXXVII 1 brachte ich in einer letzten Versuchsreihe auf:

XXXVIII 1 *Salix herbacea*, XXXVIII 4 *Salix acutifolia*,

2 „ *reticulata*, 5 „ *daphnoides*.

3 „ *serpyllifolia*,

19. Juli. *S. serpyllifolia* ist auf Blattunter- und Oberseite mittelstark befallen. *S. reticulata* trägt 1 Lager auf der Blattunterseite. *S. herbacea* ist abgestorben, *acutifolia* und *daphnoides* sind pilzfrei.

Ergebnis der Versuchsreihen XXXVI — XXXVIII.

Melampsora Larici-Retusae Ed. Fischer vom Oberhornsee infiziert *S. retusa* stark, *S. serpyllifolia* mittelstark und *S. reticulata* äußerst spärlich.

Ihr Verhalten zu den andern von Ed. Fischer und Klebahn angegebenen Nährpflanzen ist noch nachzuprüfen.

C. Diskussion der Versuchsergebnisse.

Da die fünf, von mir zum ersten Male experimentell untersuchten Formen morphologisch sehr ähnlich sind und, wie später noch gezeigt werden soll, alle dem *Epitea*-Typus angehören, muß ich hier, um die neue Benennung zu rechtfertigen, noch genauer auf die biologischen Verhältnisse eingehen.

Tabelle 1 zeigt das Impfresultat der von mir in dieser Arbeit untersuchten Pilze auf den verschiedenen Nährpflanzen, die folgenden Tabellen sind dem Vergleiche mit den bisher schon bekannten Formen gewidmet.

Melampsora Larici-Nigricantis nov. f. sp.

Dieser Pilz zeichnet sich durch seine große Infektionskraft auf den ersten Blick vor allen übrigen Formen aus (Tabelle 1). Von den 24 Weiden, die auf ihr Verhalten zu dieser *Melampsora* geprüft wurden, befällt sie, allerdings zum Teil nur spärlich, nicht weniger als 12. In dieser Beziehung erinnert sie an *Melampsora Larici-epitea* Kleb., die ebenfalls ihre *Uredo* auf einer ganzen Reihe von *Salix*-Arten zu bilden vermag. Stark infiziert werden von *M. Larici-Nigricantis* jedoch nur 3, *Salix nigricans*, *S. glabra* und *S. Hegetschweileri*, alle drei ganz nahe Verwandte. Diese Tatsache macht ihr analoges Verhalten dem Pilze gegenüber leicht verständlich.

Salix purpurea und *S. aurita* sind gegen *Melampsora Larici-Nigricantis* vollständig immun; dadurch ist die Nichtidentität mit *M. Larici-Purpureae* bewiesen.

Nicht geringer sind die Unterschiede gegenüber *Melampsora Larici-epitea* Kleb. und *M. Larici-Daphnoidis* Kleb. (siehe Tabelle 2). Unser Pilz befällt deren Hauptnährpflanzen, *Salix viminalis* und *S. aurita* gar nicht, *S. cinerea*, *acutifolia* und *daphnoides* nur schwach. Die Hauptnährpflanze unserer *M. Larici-Nigricantis*, *Salix nigricans*, scheint gegen *M. Larici-epitea* immun zu sein¹⁾.

Melampsora Larici-Purpureae nov. f. sp.

Diese Form befällt nur *Salix purpurea* sehr stark, *S. aurita* und *S. daphnoides* bedeutend schwächer, während *Salix nigricans*, *incana*, *grandifolia* und *cinerea* von ihr ganz spärlich infiziert werden. Wir haben es hier zweifellos mit derjenigen Form zu tun, die von allen bisher untersuchten schweizerischen *Melampsoren* der norddeutschen *Melampsora Larici-epitea* und der *M. Larici-Daphnoidis* am nächsten steht, indem sie zwei Hauptnährpflanzen derselben, *Salix aurita* und *S. daphnoides* mittelstark und *S. cinerea* schwach zu infizieren vermag. Dagegen geht sie nie auf *S. viminalis*, während umgekehrt *M. Larici-epitea* auf der Nährpflanze von *M. Larici-Purpureae*, auf *S. purpurea* höchstens eine spärliche Infektion hervorruft.

Beim Nachsehen der Tabelle 2 fällt einem immerhin eine gewisse Uebereinstimmung der Resultate von *Melampsora Larici-Daphnoidis*, besonders des Holsteiner-Materials, mit unserer *M. Larici-Purpureae* auf. Leider hat Klebahn den erstgenannten Pilz nicht auf sein Verhalten zu *Salix purpurea* geprüft, so daß keine weitergehenden Schlüsse gezogen werden können.

1) Klebahn, Kulturversuche. IX.

Die *Melampsoren*, die bisher auf *S. purpurea* in Norddeutschland gesammelt wurden, bilden ihr *Caeoma* ohne Ausnahme auf *Ribes*-Arten, scheinen also mit *Larix*-*Caeoma* in keinem Zusammenhange zu stehen.

Melampsora Larici-Reticulatae nov. f. sp.

Dieser Pilz unterscheidet sich biologisch von allen nicht alpinen *Larix*-*Melampsoren* durch den engen Kreis von Wirtspflanzen (Tabelle 1). Von 23 daraufhin untersuchten Weidenspecies befällt er nur drei, *Salix reticulata* und *hastata* äußerst heftig, *S. herbacea* nur schwach. Alle nicht alpinen und mehrere andere alpine *Salices* scheinen gegen diesen Parasiten vollständig immun zu sein. Besonders auffällig ist das Verhalten von *Melampsora Larici-Reticulatae* zu *Salix retusa* (Tabelle 2). Auf den 8 Töpfen mit *Salix retusa* und *S. retusa* var. *serpyllifolia*, die zusammen über 400 Blätter besitzen mochten, trat bei allen Versuchen nie das kleinste *Uredo*-Lager auf, während dicht daneben auch das letzte Blatt von *Salix reticulata* voll *Uredo* hing.

Infolgedessen ist *Melampsora Larici-Reticulatae* von *M. Larici-Retusae* leicht zu unterscheiden.

Ed. Fischer¹⁾ hat in seinen Versuchen mit *M. Larici-Retusae* in einem Fall eine schwache, in einem andern Versuche keine Infektion auf *Salix reticulata* erhalten. Mein Infektionsmaterial von *Melampsora Larici-Retusae* ergab auf *S. reticulata* auch nur einen äußerst spärlichen Impferfolg (siehe Versuchsreihe XXXVIII).

Ich bin deshalb geneigt anzunehmen, daß in freier Natur *Salix reticulata* nicht von *M. Larici-Retusae* befallen wird, sicherlich aber nicht die Teleutosporen dieses Pilzes trägt. Denn sonst hätte ich unter meinem Pilzmaterial auf *S. reticulata* vom Oberhornsee und von der Schynigen Platte, wo sich dicht dabei auf *S. retusa* massenhafte Lager von *M. Larici-Retusae* fanden, doch sicher auch eine Spur des letztern Pilzes finden müssen. Wie schon erwähnt, blieb aber *Salix retusa* bei diesen Versuchen ohne Ausnahme pilzfrei.

Bei den zwei verbreitetsten alpinen *Melampsoren*, *M. Larici-Reticulatae* und *M. Larici-Retusae*, könnte die Wahl des *Caeoma*-Wirtes einigermaßen überraschen. Nach Christ²⁾ strahlt *Larix decidua* aus dem Wallis nur in die Talhintergründe der bernischen Hauptkette hinüber. Durch Anpflanzung wurde dieser ursprüngliche Verbreitungsbezirk der Lärche nun allerdings erweitert.

Ich ersehe aus einer gütigen Mitteilung des Herrn Kreisförster Marti in Interlaken, daß in jenem Teil des Berner Oberlandes, in welchem Schynige Platte und Oberhornalp liegen, nur ein einziger ursprünglicher, nicht angepflanzter Lärchenbestand vorhanden ist, nämlich im hintern Sefnental. Alle übrigen Lärchen, die in acht kleinern und größern Beständen über das Gebiet der Lütchinentäler verstreut sind, gingen ausnahmslos aus künstlichen Anpflanzungen hervor.

Immerhin steht die relativ geringe Zahl der vorhandenen Lärchen zu dem massenhaften Auftreten des Weidenrostes in keinem Verhältnis.

1) Fischer, Ed., l. c.

2) Christ, Das Pflanzenleben der Schweiz 1882.

Und doch ist Uredo-Ueberwinterung für diese Höhenlage bis jetzt nicht nachgewiesen; ein dahinzielender Versuch verlief wenigstens resultatlos, indem Uredosporen, die ich am 30. Oktober 1904 auf abgestorbenen Blättern von *Salix hastata* 2200 m über Meer sammelte und im Freien überwinterte, im nächsten Frühjahr ihre Keimfähigkeit verloren hatten.

Daß ein Sporenttransport auf große Distanzen stattfinden kann, ist sicher. Lärchen und infizierte Weiden befinden sich oft weit auseinander. Auf der Oberhornalp fehlt *Larix* vollständig, die zunächst stehenden Lärchen wachsen jenseits des um 1000 m höhern Tschingelgrates im Sefnental und auf der Wengernalp in 10 km Entfernung. In diesem und in manchem andern Falle ist wohl nicht an eine regelmäßige direkte Uebertragung der Basidiosporen resp. Caeomasporen zu denken. So wird die *Melampsora* auf *Salix reticulata* der Oberhornalp eher auf zufliegende Uredosporen als auf direkte Caeoma-Infektion zurückzuführen sein.

Ed. Eischer¹⁾ hat vor kurzem neuerdings auf den schon von Magnus²⁾ und Johanson³⁾ hervorgehobenen Umstand hingewiesen, daß in der alpinen Uredineenflora die Rostpilze mit stark reduziertem Entwicklungsgang relativ am stärksten vertreten sind. Diese Erscheinung ist wahrscheinlich als Anpassung an eine Verkürzung der Vegetationszeit in der Alpenregion zu betrachten. Mit dieser Anschauung stimmt eine Beobachtung, zu der mir Versuchsreihe XVI Gelegenheit bot, gut überein. Es traten in diesen Versuchen mit *Melampsora Larici-Reticulatae* nämlich schon 3—4 Wochen nach der Caeoma-Infektion die ersten Teleutosporenlager auf, die die Uredo rasch verdrängten, während bei Parallelversuchen mit *M. Evonymi-Incanae* und *M. Ribesii-Grandifoliae* unter völlig gleichen äußern Bedingungen die Teleutosporenbildung nach 7 Wochen noch nicht begonnen hatte.

Folgende Zusammenstellung gibt darüber Aufschluß:

| | Dat. d. Caeoma- aussaat | Kontrolle am 5. Juni | Kontrolle am 17. Juni | Kontrolle am 8. Juli | Kontrolle am 26. Aug. | Kontrolle am 13. Okt. |
|--|-------------------------------|----------------------------|----------------------------------|----------------------------|-----------------------------|--------------------------------|
| <i>M. Larici-Reticulatae</i> auf <i>Salix reticulata</i> | 24. Mai | Nur Uredo | Uredo u. spärl. Teleutosporen | Nur Teleutosporen | — | — |
| <i>M. Evonymi-Incanae</i> auf <i>Salix incana</i> | 18. Mai | Nur Uredo | Nur Uredo | Nur Uredo | Nährpflanze abgestorben | — |
| <i>M. Ribesii-Grandifoliae</i> auf <i>Salix grandifolia</i> | 17. Mai | Nur Uredo | Nur Uredo | Nur Uredo | Nur Uredo | Teleutosporen und spärl. Uredo |

1) Fischer, Ed., Uredineen der Schweiz. p. XIX.

2) Magnus, Ber. d. d. bot. Ges. Bd. XI. 1893.

3) Johanson, Bot. Centralblatt. Bd. XXVIII. 1886.

Während die alpine *Melampsora* also 24 Tage nach der *Caeoma*-Infektion mit der Teleutosporenbildung schon begonnen hatte, verharrten die nicht alpinen Pilze mindestens 51 resp. 101 Tage in ausschließlicher Uredo-Produktion. Diese auffällige Beschleunigung der Dauersporenbildung bei *Melampsora Larici-Reticulatae* könnte ungezwungen als eine Nachwirkung des stark verkürzten alpinen Sommers gedeutet werden. Bei Mitberücksichtigung der frühern Kulturversuche mit alpinen Weidenmelampsoren gewinnt diese Anschauung noch an Wahrscheinlichkeit. Jacky¹⁾ konstatierte bei *M. alpina* Juel schon Ende Mai, 32 Tage nach der *Caeoma*-Infektion, Teleutosporenbildung, und nach Ed. Fischers²⁾ Beobachtungen war *M. Larici-Retusa*e Mitte Juli, 46 Tage nach Aussaat der *Caeomaspor*en, sowohl auf abgestorbenen als auch auf lebenden Blättern von *Salix retusa* nur noch in Teleutosporenform vorhanden.

Melampsora Evonymi-Incanae nov. f. sp.

Dieser Pilz nimmt unter den von mir untersuchten Formen eine ganz eigenartige Stellung ein, nicht nur durch die Wahl seines *Caeoma*-Wirtes, sondern hauptsächlich durch die bei ihm so streng durchgeführte Spezialisierung. *M. Evonymi-Incanae* scheint in ihrer Uredo-Generation univor zu sein, wenigstens infizierte sie unter 16 verschiedenen Weidenspecies nur *Salix incana*. Sie ist also in dieser Beziehung ein richtiges Gegenstück zu der plurivoren *M. Larici-Nigricantis*. Durch die Wahl des *Caeoma*-Wirtes unterscheidet sich *M. Evonymi-Incanae* auffällig von allen *Larix*-Melampsoren; zudem infizieren letztere *Salix incana* gar nicht oder wie *M. Larici-Nigricantis* und *M. Larici-Purpureae* nur spärlich. Ich habe aber schon früher darauf aufmerksam gemacht, daß hier nach einiger Zeit die Uredo ohne Teleutosporenbildung wieder verschwand, daß also auf *S. incana* wie übrigens auch auf andern Versuchspflanzen, nur vorübergehende Infektion eintrat. Damit stimmt auch die Beobachtung in Versuchsreihe XX überein, daß das Teleutosporenmateriale auf *Salix incana*, trotz der großen Menge pilzkranker *Salix purpurea* und *S. nigricans* im Selhofenmoos nur *Evonymus europaeus*, nicht aber *Larix* infizierte, also von Verunreinigung mit *Larix*-Melampsoren ganz frei war.

Ganz besonders interessant ist aber der Vergleich des schweizerischen *Caeoma* auf *Evonymus* mit dem norddeutschen (Tab. 3). In meinen diesbezüglichen Versuchen verwendete ich sowohl selbstgezogenes, als auch aus dem Freien stammendes *Evonymus-Caeoma*. Immer aber, von einer Fremdinfection auf *Salix Capraea* abgesehen, wurde damit *S. incana* allein infiziert. In Nordwestdeutschland fehlt nun, wie schon erwähnt, *S. incana*, nicht aber das *Caeoma* auf *Evonymus*. Dasselbe gehört, wie Klebahn³⁾ experimentell nachgewiesen hat, dort zu *Melampsora Evonymi-Capraearum*, die ihre Teleutosporen auf *S. cinerea* und *S. aurita*, schwächer oder gar nicht auf *S. Capraea* bildet.

Melampsora Ribesii-Grandifoliae nov. f. sp.

In der Wahl der *Caeoma*-Nährpflanze weicht dieser Pilz von allen

1) Jacky, L. c. p. 54.

2) Fischer, Ed., Ber. d. schweiz. bot. Ges. Heft 14. 1904. Sep.-A. p. 8.

3) Klebahn, Kulturversuche. VIII.

bisher geschilderten stark ab. Er hat seine nächsten Verwandten bei den *Ribes* bewohnenden *Melampsoren* Norddeutschlands (Tabelle 4). Doch sind die Abweichungen selbst von der in biologischer Hinsicht am meisten übereinstimmenden *Melampsora Ribesii-Auritae* Kleb.¹⁾ immerhin noch beträchtliche. Letztere bildet reichliches *Caeoma* auf *Ribes grossularia* und spärliches auf *R. nigrum*, während diese beiden Nährpflanzen gegen *Melampsora Ribesii-Grandifoliae* immun sind. Zudem befällt der letzterwähnte Pilz *Salix aurita* nur mittelstark und *S. Capraea* gar nicht.

Alle von mir untersuchten *Melampsoren*, mit Ausnahme der *Melampsora Larici-Capraearum* ergeben bei mikroskopischer Betrachtung immer wieder dasselbe Resultat: Es sind Pilze, deren morphologische Unterschiede — falls überhaupt solche vorhanden sind — mit Hilfe der gewöhnlichen Untersuchungsmethoden nicht sicher festgestellt werden können. Klebahn hat für solche Formen, die in der Hauptsache nur physiologische Unterscheidungsmerkmale aufweisen, den Ausdruck „biologische Arten“ aufgestellt. Doch hat er sich über das Verhältnis derselben zu den morphologischen *Species* nicht weiter geäußert. Andere²⁾ haben die Einführung biologischer Formen in die Systematik mit Artnamen überhaupt unstatthaft gefunden, doch waren ihre Vorschläge — z. B. derjenige³⁾, die biologischen Formen als Synonyme zu der betreffenden Art zu stellen — auch nicht immer zweckmäßig.

Als praktischer dürfte sich die systematische Bearbeitung der Weidenmelampsoren herausstellen, wie sie Ed. Fischer in „Die Uredineen der Schweiz“ durchgeführt hat. Doch wurden nach Erikssons Vorgehen bei *Puccinia graminis* die biologischen Formen *Larici-epitea*, *Larici-Daphnoidis*, *Larici-Retusae*, *Larici-Nigricantis* und *Larici-Purpureae* als *formae speciales* unter dem Artnamen *Melampsora Larici-epitea* Kleb. vereinigt.

Verfolgen wir den damit vorgezeichneten Weg in der *Melampsoren*-systematik weiter, so ist eine befriedigende Lösung dieser Fragen zu erwarten.

Was ferner die Art der Verteilung der Lager auf den Blättern betrifft, so haben Untersuchungen von Blattquerschnitten, die allerdings noch nicht abgeschlossen sind, es mir wahrscheinlich gemacht, daß — wie übrigens schon Hennings⁴⁾ behauptete — diese Verhältnisse bei parasitären Pilzen sehr von der Beschaffenheit der Nährpflanze abhängen. So scheint bei *Melampsora Larici-Reticulatae* die Dicke der Epidermisaußenwand das Auftreten der Uredo-Lager — ob blattunter- oder oberseits — mit zu beeinflussen.

Falls man am bisherigen morphologischen Artbegriff auch bei den Weidenmelampsoren vom *epitea*-Typus festhalten will, so bleibt bis auf weiteres nichts anderes übrig, als unter der alten Bezeichnung *Melampsora epitea* alle *Melampsoren*, deren morphologische Diagnose mit *M. Larici-epitea* Kleb. im großen und ganzen übereinstimmt, als *formae speciales* zu vereinigen. Ob dieselben ihr *Caeoma* auf *Larix*, *Evonymus* oder *Ribes* bilden, fällt dabei außer Betracht.

1) Klebahn, Kulturversuche. IX.

2) Z. B. Hennings, Ztschr. für Pflanzenkrankh. Bd. XII. 1902. p. 132.

3) Hennings, l. c.

4) Hennings, l. c.

Vergleichende entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen, die mit *Puccinia graminis* in Schweden von Eriksson¹⁾ und in Nordamerika von Carleton²⁾ fast zu gleicher Zeit ausgeführt wurden, brachten Eriksson³⁾ zur Ueberzeugung, „daß die Spezialisierung einer und derselben Schmarotzerart in verschiedenen Ländern auf ungleiche Weise durchgeführt ist“. Wir müssen hier etwas genauer auf seinen Gedankengang eingehen.

Nach ihm ist *Puccinia graminis* in Schweden in folgende Formen spezialisiert:

1) f. sp. *Avenae* auf *Avena sativa*, *A. elatior*, *A. sterilis*, *A. brevis*, *Dactylis glomerata*, *Alopecurus pratensis*, *Milium effusum*, *Lamarckia aurea*, *Trisetum distichophyllum*, *Koeleria setacea*, *Bromus arvensis*, *B. brachystachys*, *B. madritensis*, *Festuca Myurus*, *F. teniflora*, *Vulpia bromoides*, *Phalaris canariensis*, *Phleum asperum*, *Briza maxima* (d. h. auf Hafer + 18 Grasarten).

2) f. sp. *Secalis* auf *Secale cereale*, *Hordeum vulgare*, *H. jubatum*, *H. murinum*, *H. comosum*, *Triticum repens*, *T. caninum*, *T. desertorum*, *Elymus arenarius*, *E. sibiricus* und *Bromus secalinus* (d. h. auf Roggen, Gerste und 8 Grasarten).

3) f. sp. *Airae* auf *Aira caespitosa* und *A. bottnica* (d. h. auf 2 Grasarten).

4) f. sp. *Agrostis* auf *Agrostis canina* und *A. stolonifera* (d. h. auf 2 Grasarten).

5) f. sp. *Poae* auf *Poa compressa*, [*P. caesia* und *P. pratensis*] (d. h. auf 1 [—3] Grasarten).

6) f. sp. *Tritici* auf *Triticum vulgare*, [*Hordeum vulgare*, *Secale cereale* und *Avena sativa*] (d. h. auf Weizen, bisweilen auch Gerste, Roggen und Hafer ansteckend).

Untersuchungen von Carleton haben nun für die Spezialisierung der nordamerikanischen *Puccinia graminis* gewisse Abweichungen ergeben.

So infiziert z. B. f. sp. *Avenae* in Nordamerika *Hordeum murinum*, während diese Grasart in Schweden nur von f. sp. *Secalis* befallen wird.

Sehr abweichend ist ferner die Spezialisierung der f. sp. *Tritici* in beiden Ländern. Während f. sp. *Tritici* in Schweden gewöhnlich auf *Triticum vulgare* vorkommt und nur selten Gerste, Roggen und Hafer ansteckt, sind für Nordamerika *Triticum vulgare*, *Hordeum vulgare*, *H. jubatum*, *Elymus canadensis* und vielleicht auch *Elymus virginicus* als Wirtspflanzen dieses Parasiten nachgewiesen. In Schweden aber sind die vier letzterwähnten Nährpflanzen der f. sp. *Secalis*.

Kehren wir nun zu unsern Weidenmelampsoren zurück. Bei aller morphologischen Gleichartigkeit zeigen sich auch hier die größten biologischen Verschiedenheiten. Die Formen der Umgebung von Bern stimmen weder

1) Eriksson und Hennings, Die Getreideroste, ihre Geschichte und Natur, sowie Maßregeln gegen dieselben, Stockholm 1896, und als Zusammenfassung: Eriksson, Ueber die Spezialisierung des Getreideschwarzrostes in Schweden und in anderen Ländern. (Dieses Centralbl. Abt. II. Bd. IX. 1902.)

2) Carleton, Cereal rusts of the United States. Washington 1899.

3) Eriksson, l. c. p. 590.

mit denen der norddeutschen Tiefebene, noch mit jenen der Alpenregion überein. Wohl sind es hier wie dort mit wenig Ausnahmen die gleichen *Caeoma*-Wirte. *Larix decidua* spielt am Meer, auf der Hochebene und in den Alpen die gleich wichtige Rolle im Entwicklungsgang der meisten dieser heterözischen Rostpilze; aber jedes der drei Gebiete hat sein besonderes *Larix-Caeoma*. Das bernische *Evonymus-Caeoma* gehört einem andern Pilze an als dasjenige vom Duvenstedter Brook (Holstein)¹⁾. Ersteres infiziert *Salix incana*, letzteres dagegen *S. aurita*, *cinerea* und *Capraea*. Die *Melampsora* auf *Salix purpurea* in der Prignitz²⁾ bildet ihr *Caeoma* auf *Ribes grossularia*, im Selhofenmoos bei Bern ist *Larix* der *Caeoma*-Wirt. Die Weiden der Ebene sind gegen alpine *Melampsoren* immun. Dies alles zeigt, daß nicht nur in zwei verschiedenen Erdteilen, sondern schon auf verhältnismäßig geringem Raume in geographisch und klimatisch getrennten Gebieten die Spezialisierung verschiedene Wege einschlagen kann.

Ein Pilz von gewisser biologischer Konstanz ist *Melampsora Larici-Capraearum*. *Caeoma* aus Teleutosporenmaterial von *Salix grandifolia* herangezogen infiziert auch die Hauptnährpflanze *Salix Capraea* wieder sehr stark und doch könnte auch für diesen Parasiten eine örtlich etwas abweichende Spezialisierung nachgewiesen werden.

Wie haben wir uns aber das Zustandekommen einer solchen verschiedenen Spezialisierung zu denken? Eriksson sagt darüber folgendes: „Nach dem oben über die Spezialisierung des Getreideschwarzrostes in Schweden und in anderen Ländern Angeführten dürfte man sagen können, daß die Frage von der Spezialisierung des Parasitismus in ein neues Stadium getreten ist. Das Phänomen der Spezialisierung steht nicht länger da als der Exponent eines dem Schmarotzer innewohnenden, launenhaften und unerklärlichen Triebes, neue Formen zu produzieren. Dieser Trieb wird durch die umgebenden Verhältnisse — die vegetative Unterlage und das Klima — unter denen der Parasit lebt, in eine bestimmte Richtung geleitet. Wo eine gewisse Nährpflanzenspecies reichlich vorkommt und wo zugleich die klimatischen Verhältnisse für das Gedeihen des Pilzes günstig sind, da erreicht dieser eine größere Vollkommenheit. Die Ueberlegenheit kommt nicht nur durch eine im ganzen höhere innewohnende Lebenskraft (Vitalität) zum Vorschein, sondern auch durch einen höheren Grad von systematischer Festigkeit — die Form wird von parallel entstandenen Schwesterformen gut getrennt, d. h. „scharf fixiert“ — und durch eine überlegene Fähigkeit, auf solchen Grasarten, die früher davon unberührt waren, Nährboden zu finden und Verbreitung zu gewinnen. Ist aber der Vorrat an den erforderlichen Nährpflanzenspecies in einem Gebiete spärlich und findet sich die Pilzform noch dazu in der Peripherie ihrer natürlichen Verbreitungszone, dann wird auch die Entwicklung derselben durchaus schwächer. Diese Schwäche zeigt sich in einer geringeren Selbständigkeit — die Form wird „nicht scharf fixiert“ — und in der wesentlich beschränkten Fähigkeit, sich neue Wirtspflanzenarten zu erwerben.“

Als Beleg für diese Ansicht führt Eriksson die Tatsache an, daß in Schweden der Haferbau die erste Stelle einnimmt, während sehr wenig Weizen gebaut wird. Infolgedessen hat f. sp. *Avena e* die größte, f. sp.

1) Klebahn, Kulturversuche. IX.

2) Klebahn, l. c.

Triticici die geringste Vitalität, erstere lebt auch dementsprechend auf 19 Grasarten, letztere nur auf dem Weizen.

In Nordamerika nun sind die Verhältnisse andere. Außer Hafer beansprucht dort auch der Weizen ein außerordentlich großes Kulturareal. Dementsprechend ist die Vitalität der f. sp. Triticici in Nordamerika gestiegen, die Form bewohnt nun hier 9 Wirtspflanzen.

Als einen die Vitalität begünstigenden Faktor betrachtet Eriksson des fernern das Fehlen eines Nebenbuhlers auf den Nährpflanzen.

Klebahn dagegen sucht die Kräfte, die das Verhalten der Pilze gegen verschiedenartige Nährpflanzen bestimmen, nicht in den letztern, sondern in den Pilzen selbst, wenn diese Kräfte auch unter dem Einflusse der Nährpflanzen auf die Pilze entstanden sein mögen.

Wie steht nun die Spezialisierung der Weidenmelampsoren mit Erikssons Anschauung im Einklang?

In Nordwestdeutschland¹⁾ gehören *Salix aurita*, *S. cinerea*, *viminalis* und *daphnoides* zweifellos zu den verbreitetsten Weiden. Auf ihnen leben *Melampsora Larici-epitea*²⁾ und *M. Larici-Daphnoidis*³⁾, von denen sich besonders die erstere durch große Vitalität auszeichnet, indem sie eine ganze Reihe von Weiden zu infizieren vermag.

In der schweizerischen Hochebene sind andere Verhältnisse. In der „Flora von Bern⁴⁾“ steht unter *S. daphnoides* die Angabe: „Hier und da an der Aare“, bei *S. aurita* „hin und wieder“. *S. cinerea* wird als seltener bezeichnet und für *S. viminalis* werden einige der nicht allzu vielen Standorte direkt genannt.

Dagegen steht bei *S. nigricans* „häufig“ und bei *S. purpurea* „gemein“. Diese beiden Weiden sind die Hauptwirte von *Melampsora Larici-Nigricantis* und *M. Larici-Purpureae*. In der Tat wohnt diesen zwei Pilzen entsprechend der Häufigkeit des Vorkommens ihrer Nährpflanzen eine große Vitalität inne, indem die *Uredo* von *M. Larici-Nigricantis* 12, diejenige von *M. Larici-Purpureae* 8 Weidenarten — wenn oft auch nur spärlich — zu befallen vermag.

Es kann nun eine gewisse Verwandtschaft der letzterwähnten zwei schweizerischen Formen zu *M. Larici-epitea* und *M. Larici-Daphnoidis* nicht bestritten werden, da *M. Larici-Nigricantis* immerhin 2, *M. Larici-Purpureae* sogar 3 Nährpflanzen der beiden norddeutschen Pilze zu infizieren vermag.

Aus all diesen Tatsachen wäre nun vielleicht — analog Erikssons Vorgehen bei *Puccinia graminis* — der Schluß zu ziehen, daß die Spezialisierung der Weidenmelampsoren in Nordwestdeutschland und in der Schweiz verschiedene Wege einschlug, weil ein und dieselbe Weidenart nicht an beiden Orten gleich häufig auftritt. So würde auch bei der Spezialisierung der *Evonymus*-Melampsoren etwas verständlicher, warum in der Umgebung von Bern⁵⁾, wo *Salix aurita* und *cinerea* seltener, *S. incana* dagegen sehr häufig ist, sich die von der norddeutschen *Melampsora Evonymi-Capraearum* abweichende *M. Evonymi-Incanae* gebildet hat. Bevor aber sichere Schlüsse auf den Grad der Verwandtschaft dieser zwei Pilze gezogen werden können,

1) Buchenau, l. c.

2) Klebahn, Kulturversuche. VII.

3) Klebahn, Kulturversuche. VIII.

4) Fischer, L., Flora von Bern. Bern 1903.

5) Fischer, L., l. c.

Tabelle 1. Eigene Infektionsversuche.

+! sehr stark oder stark, + mittelstark, (+) schwach oder spärlich infiziert,
 — nicht infiziert.

| Nährpflanzen | | M. Larici-Nigrivantis O. Schneider | M. Larici-Purpureae O. Schneider | M. Larici-Reticulatae O. Schneider | M. Evonymi-Incanae O. Schneider | M. Ribesii-Grandifoliae O. Schneider | M. Larici-Capracearum Kleb. (Teleutosp. auf S. Capraea | M. Larici-Capracearum Kleb. (Teleutosp. auf S. grandifolia) | M. Larici-Retusae Ed. Fischer | |
|--------------------|---------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|------------------------------------|---|--|---|----------------------------------|---|
| Caeomawirte | Larix decidua | +! | +! | +! | — | — | +! | +! | +! | |
| | Evonymus europaeus | — | — | — | +! | — | — | — | — | |
| | Ribes alpinum | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| | R. sanguineum | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| | R. aureum | — | — | — | — | (+) | — | — | — | |
| | R. grossularia | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| | R. nigrum | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| | R. rubrum | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| | Saxifraga aizoides | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| | Allium ursinum | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| | Platanthera bifolia | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| | Abies pectinata | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| | Uredowirte | Salix nigricans | +! | (+) | — | — | — | (+) | — | — |
| | | S. purpurea | (+) | (+) | — | — | — | (+) | — | — |
| | | S. incana | (+) | (+) | — | — | — | (+) | — | — |
| | | S. Capraea | (+) | (+) | — | — | — | (+) | — | — |
| S. grandifolia | | (+) | (+) | — | — | — | (+) | — | — | |
| S. retusa | | (+) | — | — | — | — | — | — | — | |
| S. reticulata | | (+) | — | — | — | — | — | — | — | |
| S. aurita | | (+) | — | — | — | — | — | — | — | |
| S. daphnoides | | (+) | (+) | — | — | — | (+) | — | — | |
| S. cinerea | | (+) | (+) | — | — | — | (+) | — | — | |
| S. arbuscula | | (+) | — | — | — | — | (+) | — | — | |
| S. Hegetschweileri | | +! | — | — | — | — | — | — | — | |
| S. hastata | | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| S. glabra | | +! | — | — | — | — | — | — | — | |
| S. fragilis | | (+) | — | — | — | — | — | — | — | |
| S. acutifolia | | (+) | — | — | — | — | — | — | — | |
| S. herbacea | | (+) | — | — | — | — | — | — | — | |
| S. alba | | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| S. pentandra | | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| S. viminalis | | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| S. amygdalina | — | — | — | — | — | — | — | — | | |
| S. Jacquiniiana | — | — | — | — | — | — | — | — | | |
| S. elegantissima | — | — | — | — | — | — | — | — | | |
| S. Russeliana | — | — | — | — | — | — | — | — | | |
| S. serpyllifolia | — | — | — | — | — | — | — | — | | |
| S. dasyclados | — | — | — | — | — | — | — | — | | |
| S. repens | — | — | — | — | — | — | — | — | | |

Tabelle 2. *Larix*-Melampsoren vom *Epitea*-Typus.
+! sehr stark oder stark, + mittelstark, (+) schwach oder spärlich infiziert, — nicht infiziert.

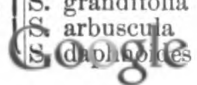
| Uredowirte | M. Larici-Nigricantis. Eigene Kulturversuche | M. Larici-Purpureae. Eigene Kulturversuche | M. Larici-Reticulatae. Eigene Kulturversuche | M. Larici-epitea (von S. viminalis) Klebahn Kulturversuche | M. Larici-epitea (von S. cinerea) Klebahn Kulturversuche IX | M. Larici-Daphnoides. Klebahn, Kulturversuche X | M. Larici-Daphnoidis. Klebahn, Kulturversuche XI | M. Larici-Retusa. Ed. Fischers Kulturversuche |
|----------------------------|---|---|---|--|---|---|--|---|
| <i>S. viminalis</i> | — | — | — | +! | + | (+) | — | — |
| <i>S. aurita</i> | — | + | — | + | +! | — | (+) | — |
| <i>S. cinerea</i> | (+) | (+) | — | + | + | — | — | — |
| <i>S. cinerea tricolor</i> | — | (+) | — | + | +! | — | (+) | — |
| <i>S. Capraea</i> | — | (+) | — | + | + | — | — | — |
| <i>S. hippophaëfolia</i> | — | — | — | (+) | +! | (+) | — | — |
| <i>S. daphnoides</i> | (+) | + | — | (+) | (+) | + | +! | (+) |
| <i>S. acutifolia</i> | (+) | — | — | (+) | (+) | + | +! | (+) |
| <i>S. fragilis</i> | (+) | — | — | — | — | + | — | — |
| <i>S. purpurea</i> | — | +! | — | — | (+) | — | — | — |
| <i>S. dasyclados</i> | — | — | — | (+) | (+) | — | — | — |
| <i>S. nigricans</i> | +! | (+) | — | — | — | — | — | — |
| <i>S. incana</i> | (+) | (+) | — | — | — | — | — | — |
| <i>S. retusa</i> | — | — | — | — | — | — | — | +! |
| <i>S. reticulata</i> | (+) | — | +! | — | — | — | — | (+) |
| <i>S. Hegetschweileri</i> | +! | — | — | — | — | — | — | — |
| <i>S. glabra</i> | +! | — | — | — | — | — | — | — |
| <i>S. hastata</i> | — | — | +! | — | — | — | — | — |
| <i>S. herbacea</i> | (+) | — | (+) | — | — | — | — | + |
| <i>S. serpyllifolia</i> | — | — | — | — | — | — | — | (+) |

Tabelle 3. *Evonymus*-Melampsoren vom *Epitea*-Typus.
+! sehr stark oder stark, + mittelstark, (+) schwach oder spärlich infiziert, — nicht infiziert.

| Uredowirte | M. Evonymi-Capraearum. Kleb., Kulturversuche VIII | M. Evonymi-Incanae. Eigene Kulturversuche |
|--------------------------------------|--|--|
| <i>Salix aurita</i> | +! | — |
| <i>S. cinerea</i> | +! | — |
| <i>S. cinerea</i> × <i>viminalis</i> | (+) | — |
| <i>S. Capraea</i> | (+) | — |
| <i>S. incana</i> | — | +! |

Tabelle 4. *Ribes*-Melampsoren.
+! sehr stark oder stark, + mittelstark, (+) schwach oder spärlich infiziert, — nicht infiziert.

| Nährpflanzen | M. Ribesii-Viminalis. Kleb., Kulturversuche | M. Ribesii-Purpureae. Kleb., Kulturversuche | M. Ribesii-Auritae. Kleb., Kulturversuche | M. Ribesii-Grandifoliae. Eigene Kulturversuche |
|----------------------|--|--|--|---|
| Caeomawirte | <i>Ribes alpinum</i> | +! | +! | +! |
| | <i>R. grossularia</i> | +! | +! | +! |
| | <i>R. aureum</i> | + | + | + |
| | <i>R. sanguineum</i> | (+) | + | (+) |
| | <i>R. nigrum</i> | + | — | + |
| Uredowirte | <i>R. rubrum</i> | +! | — | — |
| | <i>Salix viminalis</i> | +! | (+)? | — |
| | <i>S. purpurea</i> | — | +! | — |
| | <i>S. aurita</i> | — | (+)? | + |
| | <i>S. cinerea</i> | — | — | — |
| | <i>S. Capraea</i> | — | — | (+) |
| | <i>S. grandifolia</i> | — | — | +! |
| <i>S. arbuscula</i> | — | — | (+) | |
| <i>S. daphnoides</i> | — | (+) | — | — |



müßte das norddeutsche *Caeoma Evonymi* auf sein Verhalten zu *Salix incana* geprüft werden.

Da *Salix incana* bei Bern sehr häufig ist, *Melampsora Evonymi-Incanae* aber nach den bisherigen Untersuchungen der einzige Rostpilz zu sein scheint, der diese Pflanze zum Hauptwirt hat, so müßte sich nach Eriksson dieser Pilz durch große Vitalität auszeichnen und ebenso durch die ausgesprochene Fähigkeit, auf viele andern Weidenarten überzugehen. *Melampsora Evonymi-Incanae* infizierte aber von 16 verschiedenen *Salices* überhaupt nur seinen Hauptwirt, *Salix incana*.

Ein ähnliches Resultat ergibt *Melampsora Larici-Reticulatae*. Trotz der außerordentlichen Häufigkeit von *Salix reticulata* zeigt dieser Pilz bei aller Vitalität doch keine Neigung, auf viele Weidenarten überzugehen.

Resümierend komme ich zum Schlusse:

Wie *Puccinia graminis* so zeigen auch gewisse Weidenmelampsoren geographisch getrennter Gebiete eine ungleiche Spezialisierung. Inwieweit innere Entwicklungstendenzen der Pilze dabei in Frage kommen, ist schwer zu entscheiden. In einigen Fällen scheint die Nährpflanze von Einfluß gewesen zu sein. „Jedenfalls weisen aber solche Beobachtungen darauf hin, daß man sich in den Vorstellungen über das Zustandekommen der biologischen Arten vor Einseitigkeit hüten muß¹⁾.“

Nachdruck verboten.

Alte und neue Methode zum Nachweis der proteolytischen Enzyme.

[Hygienisches Institut der Königl. Universität Sassari (Sardinien).]

(Vorläufige Mitteilung.)

Von Prof. **Claudio Fermi**.

Der größte Teil der sowohl im Tierreiche wie im Pflanzenreiche so stark verbreiteten gelatinolytischen Enzyme kann nicht immer mit Hilfe des Fibrins mit Gewißheit nachgewiesen werden. Nun geschieht es aber häufig einerseits, daß das der Wirkung dieses Fermentes unterworfenen Fibrin sich ganz und gar nicht auflöst oder nur höchst unvollständig, und andererseits, daß die Probe keine glaubwürdige Reaktion gibt.

Von den übrigen Reagentien der Enzyme, wie das gesottene Eierweiß (Methode *Mette*s), das Kasein, die Milch, das Blutserum zu sprechen, halte ich für überflüssig, diese stehen, wie wir sehen werden, dem Fibrin selbst nach. Die Gelatine bildet hingegen ein außergewöhnlich empfindliches und sicheres Reagens, weil sie in Berührung mit einem gelatinolytischen Enzyme sich verflüssigt, wenn sie fest ist, und wenn sie flüssig ist, nicht mehr erstarrt.

Obwohl meine drei alten Methoden, die proteolytischen Enzyme aufzusuchen, an Empfindlichkeit alle bisher bekannten übersteigen, versuchte ich dennoch sie zu verbessern und neue Methoden zu finden.

1) Fischer, Ed., Die biolog. Arten der parasit. Pilze und die Entstehung neuer Formen im Pflanzenreich. 1903. p. 9.

Methoden der festen Gelatineröhrchen.

a) Zubereitung der Gelatine.

| | |
|-----------------|---------------------------|
| Gelatine | g. 1—2—5—10 ¹⁾ |
| Karbolsäure | „ 0,5 |
| Natronkarbonat | „ 1—2 |
| Destill. Wasser | „ 100. |

Das Lösen der Gelatine soll bei 80—90° geschehen. Ein besonders anhaltendes Kochen ist stets zu vermeiden.

Man erhält eine neutrale Gelatine, indem man sie neutralisiert, eine alkalische, beim Hinzufügen von Soda (1—2%) und eine Säure, indem man Mineralsäuren zu 1—5% oder organische Säuren (5—10%) hinzufügt.

b) Zubereitung und Gebrauch der Gelatineröhrchen.

In kleinen Röhrchen von 5—6 mm Durchmesser verteilt man die Gelatine im Verhältnis von 1 ccm pro Röhrchen; bringt sie in eine genaue vertikale Lage innerhalb eines mit kaltem Wasser angefüllten Behälters, damit die Gelatine regelmäßig erstarrt. Man bewahrt dann diese Röhrchen umgekehrt in einem Wasser enthaltenden Gefäße, um das Austrocknen der Gelatine zu vermeiden.

Um eine Forschung anzustellen, verfähre man, wie folgt:

- 1) Man nimmt aus dem Gefäße die nötige Anzahl von Röhrchen,
- 2) trocknet dieselben ab,
- 3) versieht sie der Länge nach mit einem Papierstreifen, der genau die freie Oberfläche der Gelatine anzeigend, bis zum Boden des Röhrchens reicht; dieser Streifen dient zum Aufzeichnen der aufgelösten Gelatineschicht mit einer Feder und in regelmäßigen Zwischenräumen, z. B. alle 24 Stunden, wie auch des Datums und anderer notwendigen Bemerkungen.

- 4) Man gießt 0,5—1 ccm von der zu untersuchenden Flüssigkeit, die 5% Karbolsäure oder 1% Thymol enthalten, in die Röhrchen, um zu vermeiden, daß die Verflüssigung der Gelatine infolge der proteolytischen Enzyme, die sich an den während des Versuches entwickelten Keimen absondern, vor sich gehe.

- 5) Die Proben hält man in einer gleichmäßigen Temperatur, indem man sie in einen Thermostaten auf 20° bringt, jedoch darf die Gelatinekonzentration nicht unter 2% sein. Ist die Raumtemperatur nicht unter 12° und glaubt man, daß die täglichen Wechsel den Verlauf der Forschungen nicht stören können, so kann man sie auch außerhalb des Thermostaten lassen. Sowohl in dem einen Falle wie im anderen vermeide man natürlich die Temperaturen, die den Verflüssigungspunkt der Gelatine in der gebrauchten Konzentration übersteigen.

- 6) Es ist ratsam, die Flüssigkeiten, in denen man die Enzyme ansuchen will, zu filtrieren, wenn es möglich ist und sie nicht darunter leiden, denn die schwebenden Substanzen lassen, wenn sie auf die Gelatine präzipitieren, die Verflüssigung weniger regelmäßig vor sich gehen.

Da ich mich entschlossen hatte, das Maximum der Empfindlichkeit dieser Methode zu erreichen, war ich genötigt, folgende Fragen zu studieren:

- 1) Je nach der Temperatur, bei welcher man experimentiert. Eine Gelatine zu 1° kann man bloß bei niedriger Zimmertemperatur brauchen.

- A. den Einfluß der Konzentration der Gelatine der Alkalien und der Temperatur,
 B. den Einfluß der Begünstigung des Kontaktes des Enzyms mit der Gelatine,
 C. den Einfluß der Entfernung der Verdauungsprodukte, d. h. der verflüssigten Gelatine,
 D. den Einfluß des Ruhezustandes und der Bewegung der Enzyme enthaltenden Flüssigkeit.¹⁾

Der Einfluß der Gelatine-Konzentration der Alkalien und der Temperatur.

Die Ergebnisse aus den vielen Versuchen des obengenannten Themas sind folgende:

1) Die Verflüssigungsfähigkeit der Gelatine steht im entgegengesetzten Verhältnisse zu ihrer Konzentration.

2) Die Verschiedenheit in der Verflüssigungsfähigkeit der verschiedenen Gelatinekonzentrationen ist größer bei der neutralen Gelatine, als bei der alkalischen, ebenso beim Aufbewahren der Proben in einer Temperatur von 14° anstatt in jener von 20°. Mit einem Worte, die in Rede stehende Verschiedenheit steigt mit der Verminderung der für die Verflüssigungsfähigkeit der Gelatine günstigen Bedingungen.

Dieses zeigen deutlich folgende Angaben:

a) Die Verflüssigungsfähigkeit der Gelatine zu 20 Proz. ist doppelt so stark als die zu 30 Proz. bei der alkalischen Gelatine, während bei der neutralen Gelatine der Unterschied $9\frac{1}{2}$ ist bei 20° und 20mal bei 14°.

b) Die 10-proz. Gelatine übertrifft die 30-proz., und zwar 3mal bei 20° und 8mal bei 14 Proz., wenn sie alkalisch ist, 10mal hingegen bei 20°, und 25mal bei 14°, wenn sie neutral ist.

c) Die 5-proz. Gelatine übertrifft 3mal die 30-proz. bei einer Temperatur von 20° und 9mal bei 14° (alkalische Gelatine).

d) Die 3-proz. Gelatine übertrifft jene zu 30 Proz., wenn sie alkalisch ist, 4mal bei 20°, und 12mal bei 14°; ist sie neutral, 28mal bei 20° und 73mal bei 13°.

e) Die 10-proz. Gelatine übertrifft jene zu 20 Proz., wenn sie alkalisch ist, 1mal bei 20° und $1\frac{1}{2}$ mal bei 14°, um dann mit der neutralen auf 5mal zu steigen, bei 14° etc.

3) Was den Einfluß der Temperatur auf die Verflüssigungsfähigkeit der Gelatine in den verschiedenen Konzentrationen betrifft, so ergibt sich folgendes:

a) Der Unterschied in der Verflüssigungsfähigkeit bei 30°—20° ist $1\frac{3}{4}$ mal für die 30-proz. alkalische Gelatine und 14mal für die neutrale bei 30—44°; er steigt hingegen bis auf 12mal bei der alkalischen und auf 149mal bei der neutralen.

1) Die vollständige Arbeit wird bald im Arch. f. Hygiene erscheinen.

b) Von 20° — 14° ist er für die 30-proz. alkalische Gelatine 2mal und für die neutrale 9mal; bei der 30-proz. Gelatine ist er $1\frac{3}{4}$ mal für die alkalische und $3\frac{1}{2}$ mal für die neutrale; bei ersterer bei 3 Proz. unter 1mal für die alkalische und $3\frac{1}{4}$ mal für die neutrale.

4) Außerdem führen wir an, daß die in Rede stehenden Unterschiede regelmäßig abnehmen, je mehr sie sich vom Anfang des Versuchs entfernen.

Einige Beispiele sind:

1) Der Unterschied zwischen der Gelatine zu 3 Proz. und jener alkalischen zu 30 Proz. ist bei 16° anfangs 8mal so groß und fällt dann auf $5-3-2\frac{1}{2}$ und kommt bis auf 2.

2) Der Unterschied zwischen der Gelatine zu 3 Proz. und der neutralen zu 20 Proz. ist bei 20° anfangs 10 mal so groß, um dann auf $6-3-2\frac{1}{2}-2$ zu fallen.

3) Diese Schwankungen verlieren sich mit der Abnahme der Unterschiede in der Konzentration der Gelatine.

1. Die 3-proz. Gelatine zeigt sich in diesem Versuche 10mal empfindlicher als die 30-proz.; 3mal ungefähr als die 20-proz. und 2mal empfindlicher als die 5-proz.

2) Die 10-proz. Gelatine zeigt sich 3mal empfindlicher als die 30-proz. und fast 2mal als die 20-proz.

3) Die Empfindlichkeit der 20-proz. Gelatine ist fast doppelt so stark als jene der 30-proz.

4) Aus diesem Versuche ergibt sich ebenfalls, daß, bevor man das Vorhandensein eines gelatinolytischen Enzymes bei der Anwendung von 10—20 oder 30-proz. Gelatine ausschließt, man wohl tut, einige Tage abzuwarten.

5) Die 5-proz. und die 3-proz. Gelatine sind hingegen die empfindlichsten unter den in diesen Versuchen angewendeten Konzentrationen.

Die mit Ammoniak behandelte Gelatine hingegen verliert, anstatt zu gewinnen, in Bezug auf ihre Empfindlichkeit, denn während in den Kontrollröhrchen mit neutraler Gelatine nach 10 Tagen die Verflüssigung 10 mm erreichte, fanden sich in der Ammoniak-Gelatine zu $5-10-15-20-25-30-35-40$ Proz. nur Spuren davon vor.

B. Ueber den Einfluß der Begünstigung des Kontaktes des Enzymes mit der Gelatine.

Ein anderes Mittel, die Empfindlichkeit der Methode zu erhöhen, war das, den Kontakt des Trypsins mit der Gelatine zu begünstigen durch Konzentrierung der Enzymspuren auf letztere, welche in der kleinen Menge (1 ccm) der in den Gelatineröhrchen enthaltenen Flüssigkeit vorhanden sind.

Zu diesem Zwecke suchte ich eine Substanz, welche die notwendigen Bedingungen besitzen konnte, nämlich ein feines, im Wasser unauflösbares Pulver, welches dem Trypsin nicht schaden und die Verflüssigungsfähigkeit der Gelatine nicht vermindern würde.

1. Versuch: In Röhrchen, welche in 1 ccm 3 Proz. Gelatine (Soda

1 Proz.) enthalten, gieße ich 1 ccm Trypsinlösung (Grübler) 1:400 000 mit Karbolsäure 5 ‰ und Soda 2 ‰ Zusatz.

Nun fügte ich in denselben 0,05—0,1—0,15 ccm von einer Suspension der verschiedenen Substanzen (1 g derselben in 100 ccm dest. Wasser), jedesmal stark geschüttelt. Nachher brachte ich die Proben in eine Temperatur von 20°.

Die erhaltenen Ergebnisse sind folgende:

Die höchste Fluidifikation erlangte man in Gegenwart folgender Substanzen: Magnesiaoxyd, Knochenkohle, Magnesiumkarbonat, Eisenoxydrat, Schwefel, Ammoniumsulfat + Eiweißlösung.

2. Die geringste Fluidifikation ergab sich beim Vorhandensein von Zinkoxyd, Zink und Eisen.

3. Gewöhnlich zeigte sich die höchste Fluidifikation mit 0,05 ccm der verschiedenen Substanzen und die niedrigste mit 0,15 ccm; eine Mittelfluidifikation hatte man mit 0,1 ccm. Unter den verschiedenen versuchten Substanzen ist also die Kohle eine der geeignetsten, um das gestellte Ziel erreichen zu können, d. h. um den Kontakt des Trypsins mit der Gelatine zu begünstigen und gleichzeitig die niedrigste Grenze der gelösten Gelatineschicht anzuzeigen.

Aus fünf mit Tierkohle angestellten Versuchen geht deutlich hervor, daß die Gegenwart des Kohlenpulvers die Empfindlichkeit der Methode sehr vermehrt. In der Tat gelang es mir, mit demselben das Trypsin in Auflösungen von außergewöhnlicher Verdünnung nachzuweisen, was man bisher nicht nur nichterreicht, ja nicht einmal erhofft hatte.

Besonders hervorzuheben ist die beständige Tatsache, daß nur die Gelatine in den Röhrchen sich nicht verflüssigt, wieder aufschwillt und ihr Niveau um einige Millimeter zunimmt.

Endlich ist noch zu bemerken, daß man oft wahrnehmen kann, wie in den Lösungen mit sehr verdünntem Trypsin, wie z. B. von 1:300 000—1:500 000, angestellten Versuchen die Verflüssigung nach 30—45 Tagen vollständig aufhört.

C. Einfluß der Entfernung der Verdauungsprodukte, d. h. der verflüssigten Gelatine.

Um wenigstens ein zeitweises Entfernen und eine Beseitigung der aufgelösten Gelatineschicht, welche die nachfolgende Verflüssigung hindern könnte, zu erlangen, verfuhr ich, wie folgt:

Anstatt die Röhrchen, welche die feste Gelatine und die Trypsinlösung enthalten, in natürlicher Stellung aufrecht zu halten, kehrte ich dieselben um.

Dieses tat ich auf zwei verschiedene Weisen:

I. Versuch: Röhrchen, die ganz genau bis an den Rand mit fester Gelatine zu 3—5—10—20—30 Proz. angefüllt waren, wurden zusammen in einem kleinen graduierten Cylinder, der 5 ccm Trypsin Merck 1 ‰ enthielt, umgekehrt, so daß die Gelatine in direkte Berührung mit dem Trypsin selbst kam.

Andere ähnliche Röhrchen, die nur 1 ccm feste Gelatine und 1 ccm derselben Trypsinlösung Merck zu 1 ‰ enthielten, wurden gerade aufrecht gehalten. Alle einzelnen Proben wurden in einer Temperatur von 20° gehalten.

II. Versuch: Nachdem ich *more solito* die Gelatineröhrchen zubereitet, goß ich in dieselben und gerade auf die Trypsinlösung flüssiges Paraffin.

Nachdem letzteres erstarrt war, brachte ich die Röhrchen teils gerade, teils umgekehrt in eine Temperatur von 20°, nachdem ich mich versichert hatte, daß keine Luftbläschen in den Röhrchen seien und daß der Kontakt zwischen Gelatine und Trypsinlösung vollständig erhalten sei, was nicht sehr leicht für die ganze Dauer des Versuches ist.

Resultat: Die größere Schnelligkeit der Verflüssigung der Gelatine in den umgekehrten Röhrchen schwankt derjenigen der geraden gegenüber von $\frac{1}{4}$ bis zum Zehnfachen.

D. Einfluß des Ruhezustandes und der Bewegung der Enzyme enthaltenden Flüssigkeit.

Der Einwand, den ich schon vor vielen Jahren experimentellerweise diskutiert habe (und welcher später von Duclaux wiederholt wurde), daß bei der Röhrchenmethode die Erneuerung des Kontaktes zwischen Enzym in Gelatine nicht garantiert wird, wenn es dem Anscheine nach von einer gewissen Bedeutung ist, fällt angesichts folgender Tatsachen und folgender Betrachtungen:

1) Besäße der Mangel der angedeuteten Erneuerung des Kontaktes die ihm von Duclaux zugeschriebene Bedeutung, so müßte die Gelatinolyse nicht nur unregelmäßig vor sich gehen, sondern nach kurzer Zeit sogar vollständig aufhören. Dies geschieht aber nicht.

Die Verflüssigung kann, wie wir tatsächlich in den zahlreichen vorhergehenden Versuchen gesehen haben, in regelmäßigen Schichten, auch zuweilen drei Monate fortdauern, was ein äußerst langer Zeitraum ist, denn bekanntlich verlieren die Enzyme in Gegenwart des Wassers sehr schnell ihre Tätigkeit.

2) Die Methode Mette (eine Abänderung der meinigen), die ebenfalls denselben Uebelstand aufweisen sollte, wird allgemein beim Studium des Pepsins angewandt, und dies, weil der oben erwähnte Uebelstand von höchst geringer Bedeutung ist, da es sich immer darum handelt, vergleichende und unter denselben Bedingungen angestellte Proben vorzunehmen, nicht aber, die absolute Menge des Albumins anzugeben, welches von einer gegebenen Enzymmenge verdaut werden kann. Andererseits ist vielleicht die Erneuerung des Kontaktes in einer gewöhnlichen künstlichen Verdauung vollständig garantiert, wo die Fibrinflocke, der Eiweißwürfel oder Cylinder, das Muskelstück, unten glatt auf dem Boden der Flüssigkeit liegen, welche das Enzym enthält?

Welcher Unterschied besteht zwischen dem Eiweißwürfel auf dem Boden der besagten Flüssigkeit und dem Gelatinecylinder, wenn nicht eine größere Kontaktfläche, welche der Eiweißwürfel dem Enzym bietet? Hatte ich übrigens nicht schon viele Jahre vor Duclaux auf diesen Einwand über die Erneuerung des Kontaktes hingewiesen, und in dieser Hinsicht folgende Forschungen angestellt?

* * *

E. Maximum der mit der Methode der festen Gelatineröhrchen erlangten Empfindlichkeit.

Im Besitze einer Reihe von Mitteln, die geeignet sind, die Empfindlichkeit der Gelatine in wirksamer Weise zu vermehren, durch Ver-

minderung der Konzentration oder durch Empfindlichmachen derselben mittels kohlelsauren Natrons, oder durch Konzentrierung der Trypsinspuren auf ihrer Oberfläche, wie auch durch Entfernung der aufgelösten Schicht, indem man die Röhrchen umkehrt, u. s. w., wollte ich nun feststellen, bis zu welcher Verdünnung das Trypsin noch nachweisbar sei.

Nach vielen Versuchen erreichte das Maximum der Sensibilität (1 : 1 400 000) mit Gelatine 1 Proz.¹⁾, Soda 1 Proz., wie man aus folgender Tabelle sehen kann:

| | 5 Tage | 8 Tage |
|---------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 1 : 1,000 000 | 3 | 6 |
| 1 : 1,100 000 | 2 ¹ / ₂ | 5 |
| 1 : 1,200 000 | 2 | 3 ¹ / ₂ |
| 1 : 1,300 000 | 1 ¹ / ₂ | 3 |
| 1 : 1,400 000 | 0 | 1 |

III. Methode der festen Gelatineplatten.

Will man das Vorhandensein proteolytischer Enzyme direkt in Tier- und Pflanzenorganen nachweisen und verfügt man nur über wenig Material, so kann man die zu untersuchenden Teilchen direkt in Kontakt mit fester Gelatine bringen.

Dies kann der folgenden Methode gemäß geschehen:

1) Man gießt eine Schicht von ungefähr 2–3 mm *more solito* zubereiteter Gelatine auf eine Glasscheibe, oder besser in eine Petri-Schale.

2) Nach Erstarrung der Gelatine bringe man auf die Oberfläche derselben die zu untersuchenden Teilchen von der Größe eines Getreidekornes wenigstens mit 1 cm Entfernung voneinander. Verfügt man über genügendes Material, so ist es gut, auf die Gelatine mehrere Teilchen der gleichen Substanz zu bringen, anstatt eines einzigen. Bisweilen geschieht es in der Tat, daß eines dieser Teilchen entweder seitens des Tieres oder des Organes, dem er entnommen oder auch je nach der Seite, mit welcher es mit der Gelatine in Kontakt gebracht wird, wie dies der Fall ist, wenn ein Stück Darm auf die seröse Seite, anstatt auf die der Schleimhautseite gelegt wird, die Gelatine nicht verflüssigt.

Auf diese Weise gelangt man nicht nur zu sicheren Resultaten, sondern man verkürzt auch die Arbeit, da man sozusagen denselben Versuch mehrmals wiederholt.

3) Verfügt man über ein reichhaltiges Material, genügt aber nicht die Anzahl der Schalen, wie dies oft geschieht, so kann dieselbe Schale zur Untersuchung von 10–20 verschiedenen Substanzen dienen, je nach der Größe der Schale. In diesem Falle schreibt man genau die zahlreichen Aufzeichnungen auf Papierstreifen von einer Breite von 1–2 cm und von einer Länge, welche den Durchmesser der Kapsel oder die Breite der Platte nicht übersteigt, dieselben klebe man parallel in Zwischenräumen von 1 cm auf die äußere Seite des Bodens der Schale. Auf diese Weise werden die Angaben durch die Gelatine hindurch sichtbar sein. Man klebt sie nicht auf den Deckel, da dieser beweglich ist und die

1) Die Gelatine zu 1 Proz. kann nur angewandt werden, wenn die Zimmertemperatur 10° nicht übersteigt.

Angaben würden infolge des Verschiebens derselben nicht mehr entsprechen.

4) Um das Eintrocknen der Gelatine zu vermeiden, schließe man die Schalen in feuchte Tyndallsche Glocken und gegen allzuhohe und allzu niedrige Temperaturen schützt man sie, indem man sie in einem Thermostaten bei 20—22° aufbewahrt.

5) Um das Gedeihen von Keimen in den Teilchen zu vermeiden, die mittels eigener gelatinolytischer Enzyme zu Irrtümern führen könnten, können die Teilchen vorher selbst in eine Lösung von 0,5—1-proz. Karbolsäure getaucht werden, oder man gieße einen Tropfen dieser glycerinierten (10-proz.) Lösung auf dieselben.

In der Praxis ist dies nicht immer notwendig. Ich war gezwungen, besonders das Material beim Untersuchen der Wurzel mit gesäuerter Gelatine zu desinfizieren, und zwar wegen der üppigen Entwicklung der gelatinolytischen Hyphomyceten.

Die Schalen werden alle 5—24 Stunden untersucht. Die Resultate kann man in wenigen Stunden wie auch nach 2 oder 3 Tagen erlangen, je nach der Energie der Enzyme und der Zimmertemperatur und der Empfindlichkeit der Gelatine (Konzentration, Sodazusatz). Hat man nach Verlauf von 5—6 Tagen keine Spur von einer Verflüssigung wahrgenommen, so kann man auf das Nichtvorhandensein der gesuchten Enzyme schließen.

* * *

IV. Methode der Fixierung und Extraktion der proteolytischen Enzyme mittels Fibrins.

Die Tatsache, daß es Stoffe gibt, welche die Eigenschaft besitzen, die Enzyme zu fixieren, brachte mich auf den Gedanken, eine andere Versuchsmethode zu finden. Dazu stellte ich folgende Versuche an:

Versuch 1. In 20 Prouvetten, die 20 verschiedene Merck-Trypsinlösungen enthielten (von 1:200 000—1:200 000) legte ich 10 Fibrinstückchen von der Größe eines Getreidekornes und brachte dann die Prouvetten in den Ofen auf 20°. Indessen bereitete ich die Petri-Schalen, die eine feste Gelatineschicht zu 3—5 Proz. und Natron zu 2 Proz. enthielten. Auf einen Papierstreifen von gleicher Größe wie die Schale machte ich die 20 Trypsinlösungen und klebte sie dann mit der Seite, welche die Aufschrift trug, auf die äußere Oberfläche des Bodens der Schale, so daß die Aufzeichnung durch die Gelatineschicht hindurch sichtbar war.

Nachdem dies geschehen war, zog ich nach 24 Stunden aus jeder dieser Prouvetten zwei Stückchen Fibrin und legte sie auf die Schale mit der Gelatine zu 5 Proz. eins neben das andere, der diesbezüglichen Aufzeichnung nach geordnet.

Ich wiederholte dasselbe Verfahren, indem ich 40 andere Fibrinstückchen auf die andere Schale zerstreute, welche die Gelatine zu 3 Proz. enthielt, und erhielt die folgenden Resultate:

1) Daß bei längerer Immersion des Fibrins, als nur zwei Tage, und beim Gebrauch einer 3-proz. Gelatine, Soda 2 Proz., man das Trypsin bis zu 1:23 000 nachweisen konnte.

2) Bei Verlängerung der Immersion auf 6 Tage und bei Verwendung 3-proz. Gelatine konnte man deutlich das Trypsin bis zur Verdünnung von 1:67 000 ungefähr nachweisen und nach 4 Tagen auch jene zu 1:200 000.

Die Gelatine zu 5 Proz. war nach 2 Tagen nur in der Lösung von ungefähr 1:23000 aufgelöst, aber nach vier Tagen wurde sie vollständig aufgelöst. Man kann daher den Schluß ziehen, daß beim Verlängern der Immersion des Fibrins in der Trypsinlösung während 6 Tagen und bei sorgfältiger Untersuchung der bei 20° aufbewahrten Kapseln nach 6—8 Tagen man das Trypsin bis 1:2000000 nachweisen kann.

Um auch den Einfluß der Kontaktdauer zwischen Fibrin und Trypsin zu studieren, wiederholte ich den Versuch, indem ich die gewöhnlichen Fibrinstückchen herauszog und zerstreute, nachdem sie länger als fünf Tage (im ganzen 6 Tage) in der Trypsinlösung zugebracht hatten.

Beim Untersuchen der Kapseln eines jeden ersten und vierten Tages erlangte ich folgendes Resultat:

3) Daß das Fibrin die Kraft besitzt, eine größere Menge Trypsin zu fixieren und der Gelatine zu überlassen als das Filtrierpapier. Papierscheiben von 4 mm Durchmesser und 1 mm Stärke von Holz verschiedener Pflanzen, Kork, Kohle, Serum, geronnenem Eiweiß, Kasein standen dem Fibrin nach.

Methode der flüssigen Gelatineröhrchen¹⁾.

Die Methode der flüssigen Gelatine kann in drei Verfahren geteilt werden. Die Methode ist weniger sicher als jene der Röhrchen, die Resultate sind oft kontradiktorisch, was eine Wiederholung der Versuche benötigt.

Das erste Verfahren besteht darin, die minimale Quantität des Enzyms festzustellen, welche eine gegebene Menge Gelatine in einer gegebenen Zeit und bei einer gegebenen Temperatur unauflösbar machen kann.

Beschreibung. In 6 mm weite Röhrchen mit Gelatine zu 2—3—5 Proz. gießt man verschiedene, regelmäßig zunehmende Mengen der Enzymlösung. Die Proben werden auf 30° gebracht; nach einem, oder auch nach 15 oder 20 Tagen, je nachdem, nimmt man die Röhrchen aus dem Ofen und läßt sie 24 Stunden lang bei 10° stehen. Der feste oder flüssige Zustand der Gelatine in den verschiedenen Röhrchen ergibt die minimale Dosis des Enzyms, die noch fähig ist, der Gelatine die Erstarrungsfähigkeit zu nehmen.

Aus den angestellten Versuchen ergab sich folgendes:

Daß man auch mit dieser Methode der flüssigen Gelatineröhrchen bis 1:1400000 nachweisen kann, daß aber die Methode bedeutend weniger sicher ist, als die der Röhrchen mit fester Gelatine.

Uebelstände:

1) Ist es notwendig, oft eine überaus große Anzahl Röhrchen zur Verfügung zu haben. Da es sich in der Tat darum handelt, die aktive minimale Quantität vieler Enzyme festzustellen (wie dies häufig ge-

1) Schon 1890, also vor 15 Jahren, veröffentlichte ich eine solche Methode der flüssigen Gelatine, wie auf Seite 16 meiner Arbeit: (Die Leim und Fibrin etc. lösenden Fermente der Mikroorganismen. Archiv f. Hygiene. Bd. X. Heft 1). Dieser Methode wurde 10 Jahre später von Malfitano unter Leitung Duclaux gefolgt und empfohlen sogar als eigene Methode (Ann. l'Institut Pasteur. XIII. 1900. No. 6).

schieht, indem man die Wirkung zahlreicher physisch-chemischer Faktoren auf dieselben studiert), würden mehrere Hunderte von Röhrrchen, d. h. eine noch größere Zahl, als jene, welche meine Methode mit den Röhrrchen mit fester Gelatine erfordert, notwendig sein.

2) Anstatt die Resultate innerhalb 3—6 Tagen zu erlangen, wie dies mit dieser Methode der Fall ist, müßte man oft wochenlang warten, denn kleine Mengen, oder sehr schwache Enzyme erfordern diese Zeit.

3) Andererseits verlieren die wochenlang bei 30° erhaltenen Enzyme ihre Kraft. Hingegen kann weder die Menge noch die Konzentration über eine gewisse Grenze hinaus vermindert werden, weil die festen Gelatineröhrrchen nicht mehr erstarren.

4) Die Methode ist weniger sicher als jene, die Resultate widersprechen sich oft, was die Wiederholung der verschiedenen Versuche bedingt.

* * *

II. Verfahren. Man stellt fest, wieviel Gelatine von einer gegebenen Menge Enzym in einer bestimmten Zeit und bei einer bestimmten Temperatur nicht aufgelöst werden kann.

Beschreibung. In Röhrrchen von verschiedenen, stets zunehmenden Mengen Gelatine von 1—20 ccm gießt man 0,1—1 ccm Enzymlösung und bringt sie in den Ofen. Nach einer gewissen Zeit (5—10—30 Tage) werden sie 24 Stunden lang in 10—11° warmes Wasser gebracht und dann entnimmt man die Resultate.

Uebelstände: Es sind dies dieselben, wie bei der vorigen Methode, a) allzulange Dauer des Versuches, b) Schwächung der Enzyme, c) Notwendigkeit zahlreicher Röhrrchen.

III. Verfahren. Dasselbe besteht im Feststellen der zur Verflüssigung einer gegebenen Menge Gelatine durch eine bestimmte Menge Enzyme notwendigen Zeit.

Beschreibung: In Röhrrchen, die 1 ccm Gelatine zu 2—3—5 Proz. enthalten, gießt man 0,1—0,5 ccm der enzymhaltigen Flüssigkeit und bringt sie in eine Temperatur von 30°. Jede ½ Stunde werden sie aus dem Ofen genommen und in 10° C warmes Wasser getaucht. Erstarren die Gelatine, so wird das Röhrrchen wieder in den Ofen und dann wieder nach einer ½ Stunde in Wasser zu 10° gebracht. So fährt man fort, bis die Gelatine die Eigenschaft, zu erstarren, verloren hat¹⁾.

Der Grund, aus welchem ich besonders das dritte Verfahren aufgab, war:

1) Wollte man mit einer gewissen Genauigkeit die Zeit angeben, in welcher die Gelatine die Erstarrungsfähigkeit verloren hat, so müßte man die Proben aus dem Ofen herausnehmen und sie bei 10—15° abkühlen lassen.

Hierzu war es unumgänglich notwendig, stets einen Thermostaten bei 35° und ein Bad zu 10—11° bereit zu haben, was natürlich nicht zu Gunsten einer größeren Einfachheit dieser Methode spricht, wie Malfitano es mochte.

2) Der Experimentierende würde sich großen Opfern unterziehen müssen, um die Röhrrchen Tag und Nacht, höchstens jede Stunde aus

1) Beim Gebrauch gewöhnlicher Prouvetten wird die Gelatinemenge auf 5—10 ccm gebracht und auch dementsprechend die Menge der Enzymlösung.

dem Ofen ins Bad zu bringen. Abgesehen von der schwierigen Arbeit, die auch die Anzahl der Versuche begrenzt, daß, wenn zur Erstarrung der Gelatine 10—24 Stunden notwendig sind, die genaue Berechnung der Stunden, in welchen die Fluidifikation stattgefunden hat, unmöglich ist.

Duclaux und Malfitano mußten nicht weniger als 24—36 Tage auf die Resultate ihrer Forschungen warten. Und diese Autoren betrachteten als besonderen Vorzug dieser Methode (so daß sie dieselbe jener der Röhren vorzogen) die Schnelligkeit, mit welcher man die Resultate erlangt.

Ich hingegen kann in wenigen Stunden, höchstens in 2—3 Tagen, das Resultat aufnehmen, und jedermann kann wahrnehmen, auch beim bloßen Durchlesen, daß die Aktivität des Enzymes monatelang fort dauert.

Die obengenannten Autoren wollten einen großen Uebelstand in meiner festen Gelatinemethode gefunden haben, weil man mit derselben die Röhren in einer hohen Raumtemperatur halten muß, die aber unbeständig ist. Hätten sie meine Arbeiten etwas aufmerksamer durchgelesen, so würden sie sich diesen Irrtum erspart haben, denn ich schrieb, daß, wenn man lange und delikate Versuche anstellen will, man die Proben in einem Thermostaten bei 20—30° aufbewahren muß. Außerdem wiederhole ich noch, daß das Aufbewahren der Proben bei 35° besonders bei der von den Verf. erfundenen Methode gefährlich ist, da hierdurch die Enzyme geschwächt werden.

Ich komme daher zu dem Schlusse, daß meiner Ansicht nach die Verf. keine neue Methode erfunden haben, sondern daß sie nur die Geschicklichkeit gehabt haben, die schlechteste meiner drei Methoden, die ich bereits verworfen hatte, zu rehabilitieren.

* * *

V. Methode. Die Alkaliaalbuminate als neue Reagentien der proteolytischen Enzyme.

Es war von großer Wichtigkeit, ein der höchsten Serie dieser Substanzen angehörendes Albuminoid zu finden, welches erstarrt und, der Wirkung des zu studierenden Enzymes unterworfen, uns erlauben würde, die Proben in einer Temperatur über 30° zu bewahren.

Die in dieser Hinsicht angestellten Versuche waren sehr verschieden und zahlreich, wie man aus dem nachstehenden Ueberblick wahrnehmen kann:

- 1) Versuche mit Eiweiß, welches mit Ammoniak, kohlensaurem Natron und Kali behandelt war.
- 2) Versuche mit Blutserum vom Ochsen und vom Schweine.
- 3) Versuche in Bezug auf den Einfluß des Alkaliaalbuminats, wenn es 24 Stunden lang in einer Temperatur von 30° bleibt, bevor es zur Gerinnung gebracht wird.
- 4) Versuche, die Temperatur und die Dauer derselben zu bestimmen, um die beste Erstarrung zu erlangen.
- 5) Versuche, die geeignet sind, den Einfluß festzustellen, welchen das Schütteln oder Nichtschütteln des Eiweißes und der Eiweißmischungen, oder des Serums mit den Alkalis auf die Erstarrung ausübt.

Resultate: 1) Das Ammoniakalbuminat mit 1 oder 2 ccm dieses Alkalis, d. h. resp. zu 20 und 40 Proz., zeigt sich sehr durchsichtig und fest, so daß es vollständig dem Zwecke entspricht, während die Proben mit 3 und 4 ccm

und für uns unbrauchbar waren, obwohl sie immer ein durchsichtiges, bernsteinfarbiges Albuminat bildeten.

2) Kohlensaures Natron 20 Proz. Die Versuche mit 1 und 2 ccm gaben stets ein festes, aber undurchsichtiges Albuminat. Hingegen entsprachen besser die mit 3 und 4 ccm. Diese gaben ein festes und durchsichtiges Albuminat, welches aber stets dem mittels Ammoniak und Kalilauge erzielten nachstand.

3) Aetzkali. Ein gutes, festes und durchsichtiges, schön bernsteinfarbiges Albuminat erzielten wir mit 0,5 bis 1 ccm, während jenes mit 1,5 zu weich, und jenes mit 2 ccm fast flüssig war.

Die besten Resultate in Bezug auf die physischen Merkmale, d. h. die Durchsichtigkeit und Festigkeit, erhielten wir mit 1—2 auf 5 Ammoniak, resp. 20—40 Proz. und mit dem Aetzkali nur 0,5—1 Proz.

Starr, aber weniger durchsichtig war hingegen das Albuminat, welches wir mittels kohlensauren Natrons erlangten.

4) Die besten Resultate, nicht nur in Hinsicht auf die Empfindlichkeit des Reagens, d. h. die Schnelligkeit, mit welcher es durch Trypsin aufgelöst wird, sondern auch in Bezug auf die fortschreitende Regelmäßigkeit der aufgelösten Schicht erzielten wir mit dem Ammoniak. Dieses, im Verhältnis von 40 Proz. (2 auf 5 Eiweiß), hat an Schnelligkeit im Auflösen anfangs 3mal und dann 2mal jenes mit 29 Proz. Ammoniak (1 auf 5 Eiweiß) übertroffen.

5) In Hinsicht auf die Regelmäßigkeit der Fluidifikation haben die erwähnten Ammoniakalbuminate die durch kohlensaures Natron und Aetzkali erhaltenen übertroffen, in den mit kohlensaurem Natron bemerkte man nach 10—15 Tagen eine sehr unregelmäßige Verflüssigung und zwar in allen Proben, und das Kalialbuminat (0,5 auf 5 Eiweiß) gerann sonderbarer Weise in 11 Tagen, und das zu 1 auf 5 Eiweiß hatte sich schon nach 3 Tagen ganz aufgelöst.

Was die Schnelligkeit der Verflüssigung des Albuminats mit kohlensaurem Natron betrifft, so fand man weder einen bedeutenden noch beständigen Unterschied, wenn dasselbe in Verhältnissen von 1 oder 2, 3, 4 auf 5 Eiweiß zubereitet wurde.

6) Dasselbe zeigte sich noch bei den zwei Albuminaten mit Aetzkali (0,5—1 auf 5 Eiweiß), in den ersten zwei Tagen wenigstens, denn am 3. Tage war das Albuminat von 1 auf 5 ccm, wie schon gesagt, gänzlich aufgelöst.

7) Demnach wäre das empfindlichste Albuminat, d. h. das, welches am schnellsten zur Verflüssigung gebracht werden kann, jenes, welches mit 2 Ammoniak und 5 Eiweiß zubereitet wird.

* * *

Blutserum.

1) Der Zusatz des Ammoniaks zum Serum im Verhältnis von 5 Proz. vermehrt die Empfindbarkeit dem Trypsin gegenüber um etwas.

2) Das Maximum der Empfindbarkeit erzielt man mit 25 Proz., doch kommt es bisweilen vor, daß das Serum nicht erstarrt oder doch nur ungenügend und unregelmäßig.

3) Der Prozentsatz des Ammoniaks, der das Serum empfindlich macht, selbst indem es demselben erlaubt, zu einer durchsichtigen Gelatine zu erstarren, ist jener von 15—20 Proz.

4) Auch die Verflüssigung verläuft ziemlich regelmäßig einen Monat hindurch. Die Kalilauge gibt, wie das Ammoniak, eine feste und durchsichtige Gelatine, die dem Trypsin gegenüber bedeutend empfindlicher ist, als das natürliche Serum, aber nur im Verhältnis von 0,1—1,5 Proz., d. h. in einem 10mal geringeren Verhältnis als das Ammoniak.

5) Das Schweineblutserum verliert die Erstarrungsfähigkeit mit einer 4—5 mal geringeren Menge Ammoniak als jene ist, die noch die Erstarrung des Ochsen血清s erlaubt.

Außerdem, infolge noch unbekannter Ursachen, erstarrt es bisweilen nur mit einem Ammoniakgehalt zu 10 und auch 15 Proz., doch seltener, zu 10—15 Proz. aber nie.

1) Andererseits ist das Schweineserum mit 5 Proz. Ammoniakgehalt, d. h. jener Menge, die ihm noch erlaubt zu erstarren, weniger empfindlich als das Ochsen血清, welches dieselbe Menge Ammoniak enthält.

Das Albumen, welches dieselbe Menge Ammoniak wie das Ochsen血清 enthält, erstarrt vollständig, wie dieses, doch ist es dem Trypsin gegenüber weniger empfindlich.

1) Das Ochsen血清 mit 20 Proz. Ammoniak, der Dosis maxima optima entsprechend, ist stets empfindlich einer Trypsin(Merck)lösung von 1:3000 gegenüber.

Bald positive, bald negative Resultate gab eine größere Verdünnung des Trypsins von 1:5000 und 1:6000, während man fast beständig negative Resultate mit einer größeren Verdünnung des Trypsins erhielt.

2) Das Schweineblutserum, welches 5 Proz. Ammoniak enthielt, die einzige Dosis, die manchmal ein positives Resultat erzielte, gab meistens negative Resultate. Mit größeren Trypsinverdünnungen waren die Resultate beständig negativ.

3) Das Eiweiß gab stets negative Resultate, selbst mit einer Trypsinlösung von 1:3000.

4) Die drei nicht alkalisierten Albuminate auch von 1 ‰ gaben beständig negative Resultate.

Das Ammoniakserum erstarrt und verflüssigt viel

schneller und regelmäßiger, wenn die Mischung vor dem Gerinnen 24 Stunden lang in einem Ofen bei 30° bleibt.

1) Das Schütteln oder Nichtschütteln des Eiweißes vor dem Hinzufügen des Alkalis ist fast ohne Bedeutung, da man ebenfalls ohne Schütteln ein festes und durchsichtiges Albuminat erhält.

2) Von großer Wichtigkeit hingegen ist das gute Schütteln der Mischung. Denn während man beim tüchtigen Schütteln ein gleichmäßig festes und durchsichtiges Albuminat erhält, ist das, welches nicht geschüttelt wird, unregelmäßig fest oder sogar ganz flüssig, wenn man nur einmal die Prouvette umkehrt, ohne sie zu schütteln.

3) Läßt man die Mischung 30' lang bei 70°, so erhält man ein gutes Albuminat, hingegen ist dies nicht der Fall, wenn sie nur 15' in derselben Temperatur bleibt. Diese Albuminate können sowohl bei den Experimenten in Röhrchen, wie auch bei den mit Schalen angewandt werden.

Die Empfindlichkeit der verschiedenen Reagentien beim Aufsuchen der proteolytischen Enzyme.

Aus folgender Uebersicht erhellt die ungefähre Maximalgrenze der Empfindlichkeit der verschiedenen Methoden und Verfahren bei den Untersuchungen der Enzyme.

Zusammenfassung:

1) Mit der Methode der festen Gelatineröhrchen kann die Empfindlichkeit der Gelatine bis 1:1400000 gelangen, mit jener der flüssigen Gelatineröhrchen bis 1:1000000, während sie mittels der Extraktionsmethode mittels Fibrin und mittels der Gelatineplattenmethode ein Maximum von 1:200000 erreicht.

2) Die Empfindlichkeit der so zubereiteten Gelatine übertrifft 120mal jene des Ochsenfibrins, 300mal jene des Ochsenblutserums mit Ammoniak (NH³ 20 Proz.), 280—1400 mal jene des Kaseins (je nach der Sorte), 1400mal das Ochsen Serum und die Muskel (von Kaninchen) und endlich 2800mal das geronnene Eiereiweiß.

3) Das Fibrin übertrifft ungefähr 2mal das Serum des Ochsen mit Ammoniak (NH³ 20 Proz.), 2—14mal das Kasein (je nach der Sorte), 14mal die Muskel (vom Kaninchen).

* * *

Ueber die Möglichkeit der quantitativen Bestimmung der proteolytischen Enzyme.

Da die Gelatine ein so empfindliches und sicheres Reagens ist, um die Anwesenheit der Enzyme zu beweisen, könnte man glauben, daß sie auch zu einer quantitativen Bestimmung dienen könnte. Doch ist dies, wie wir sehen werden, nicht der Fall. Eine wirkliche quantitative Bestimmung ist gegenwärtig noch unmöglich.

Solange wir nicht im Stande sind, die Schwächung zu kennen, welcher die Enzyme ausgesetzt sind, können wir von keiner Methode in Bezug auf die quantitative Bestimmung derselben reden.

An welche Methode könnten wir in der Tat denken, um quantitativ ein proteolytisches Enzym nachzuweisen?

Es würden deren nur zwei sein: Die erste wäre, das Ferment aus der Flüssigkeit zu präzipitieren, die dasselbe enthält, es zu isolieren und dann zu wiegen.

Doch sind wir noch nicht in der Lage, die Fermente vollständig zu isolieren, und wenn dies auch möglich wäre, so würden die unausbleiblichen Verluste, die den langen Operationen folgen, die Resultate fast allen Wertes berauben.

Die zweite Methode wäre, die Aktivität einer gegebenen gelatinolytischen Flüssigkeit auszudrücken, indem man sich auf die der Lösung eines bekannten Enzyms beruft, z. B. eines gegebenen Trypsinpräparates. Man müßte hierzu eine Tabelle herstellen, welche die Quantitäten oder die in einer bestimmten Zeit, in einer bestimmten Temperatur, durch eine gegebene Quantität einer Reihe von Lösungen der obengenannten Enzyme aufgelösten Gelatineschichten darstellten. Will man die Wirkungen dieser gegebenen gelatinolytischen Flüssigkeit feststellen, so müßte man denselben Versuch mit derselben wiederholen, und so könnte man sagen: Die gegebene Flüssigkeit hat eine Aktivität, die der der Trypsinlösung gleich ist, z. B. zu 1 : 10000 etc.

Die Methode wäre einfach und sicher, wenn man mit sehr reinen Enzymen arbeiten oder wenn man quantitativ und qualitativ die Unreinlichkeit der verschiedenen Präparate kennen könnte, also ihren Inhalt an einem reinen Enzyme. Leider können wir aber nur mit Mischungen von qualitativ und quantitativ unbekanntem Substanzen arbeiten. Es ist daher unmöglich, die in Rede stehenden Trypsinlösungen von einer genauen, bestimmten Konzentration bereiten zu können.

Der Wechsel der Aktivität des Trypsins, von Tier zu Tier, von Individuum zu Individuum, von Präparat zu Präparat trägt noch dazu bei, die Schwierigkeiten der Frage zu vermehren.

Infolgedessen kann man nicht von einer genauen Methode in Bezug auf die quantitative Bestimmung der proteolytischen Enzyme reden. Wir müssen uns vielmehr mit der ungefähren Bestimmung der proteolytischen Wirkung einer gewissen Quantität einer Enzyme enthaltenden Flüssigkeit, mit der eines bekannten Enzyms verglichen, begnügen.

Die Ergebnisse der angestellten Versuche sind folgende:

1) Es ist möglich eine Tabelle zusammenzustellen, welche die verschiedene Tätigkeit der Trypsinlösungen enthält, auf der man den Energiegrad der Lösung eines anderen Enzymes vergleichen und ausdrücken kann.

2) Auch aus dieser Tabelle geht hervor, wie der Verlauf der Gelatinefluidifikation mittels Trypsin mit einer gewissen Unregelmäßigkeit vor sich gegangen ist, sowohl in Bezug auf die verschiedenen Verdünnungen, als auch in Bezug auf die Dauer der Tätigkeit.

3) Nicht weniger interessant ist die Tatsache, daß die Fluidifikation auch Monate hindurch fort dauert, ohne daß die Erneuerung des Kontaktes auf trete, was Duclaux für notwendig hielt.

Bei Anwendung dieser Methode wäre es nötig:

1) Röhrchen von gleichem Kaliber zu benutzen, die zur selben Zeit mit derselben Gelatinelösung gefüllt werden und die gewonnenen unter gleichen Bedingungen lange Zeit zu erhalten.

2) Stets gleiche Quantitäten der Lösungen untereinander zu vergleichen.

3) Die zu untersuchende Flüssigkeit vor dem Experiment zu filtrieren.

4) Den Proben stets die gleiche Quantität derselben Antiseptika und nötigenfalls die gleiche Quantität färbender oder präzipitierender Substanz (Kohle etc.) hinzuzufügen.

5) Die Proben immer bei gleicher Temperatur zu halten.

6) Die Proben nicht zu schütteln, oder in gleicher Weise und gleicher Dauer zu schütteln.

Nachdruck verboten.

Ein „Objektträgerkorb“ zum Färben von 12 Objektträgern auf einmal

Von Dr. med. **Kjer-Petersen**, Kommunehospitalet, Kopenhagen.

Mit 1 Figur.

Um Zeit zu sparen und um reinlich zu arbeiten, wo man (wie z. B. in Sanatorien) auf einmal viele Bakterienpräparate zu färben hat, kann man einen „Objektträgerkorb“, dessen Konstruktion aus der Zeichnung deutlich hervorgeht, benutzen, wie er seit mehreren Jahren schon im Vejlefjord-Sanatorium und im Boserup-Sanatorium gebraucht wird. Man hat dann nur, wenn man auf Tuberkelbacillen untersuchen will,

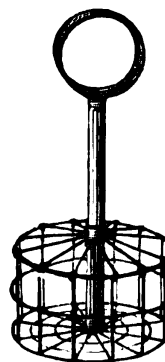
1) die Objektträger in gewöhnlicher Weise zu beschicken, lufttrocken zu machen und zu fixieren. Man kann bis 12 Objektträger in den Korb bringen,

2) Karbolfuchsin¹⁾ (Ziehl-Neelsen) in einem Metallgefäß anzuwärmen und den Korb 1—2 Minuten in dem gewärmten Karbolfuchsin unterzubringen und ihn dann (mit den Objektträgern) energisch abzuspülen,

3) den Korb in 25-proz. Schwefelsäure bis zur Entfärbung zu bringen und dann wieder energisch abzuspülen,

4) eventuell, wenn etwas Karbolfuchsin noch übrig ist, dann den Korb in 70-proz. Alkohol bis zur gänzlichen Entfärbung zu bringen,

5) den Korb in 10-proz. wässrige Methylenblaulösung 10 Sekunden lang zu bringen, energisch abzuspülen, und in der Luft (eventuell im Brutschrank) zu trocknen.



1) Wo man täglich viele Präparate auf Tuberkelbacillen untersucht, braucht man die Flüssigkeiten (mit Ausnahme der Methylenblaulösung) täglich zu wechseln. Wenn Ziehl-Neelsens Lösung in größerer Menge angefertigt wird, kosten 100 g der Lösung nur wenige Pfennige.

Der Objektträgerkorb wird von Siegler, Kompagnistraße 9, Kopenhagen angefertigt. Dasselbst kann man auch ein kleines Metallgefäß zur Erwärmung des Karbolfuchsin bekommen. Preis $2\frac{1}{8}$ Mark.

Corrigendum.

In der Arbeit von Otto Schneider, Experimentelle Untersuchungen über schweizerische Weidenrostpilze in No. 1/3 des Centralbl. f. Bakt. II. Abt. sind folgende Druckfehler zu berichtigen:

- Seite 92 Zeile 17 *Salix purpurea* statt *Salix-purpurea*.
 Seite 92 Zeile 18 *S. purpurea* X *viminalis* statt *purpurea viminalis*.
 Seite 92 Zeile 27 und 28 *Creux-du-Van* statt *Creux-du-Vau*.
 Seite 92 Zeile 17 Kt. Neuenburg statt Kl. Neuenburg.
 Seite 92 Zeile 35 *Ribes aureum* statt *R. aurerum*.
 Seite 93 Zeile 11 (siehe unter 6.) statt (siehe unter b).
 Seite 93 Zeile 15 Blattspreite statt Blattseite.

Inhalt.

- | | |
|--|--|
| <p>Bubák, Fr., Infektionsversuche mit einigen Uredineen, p. 150. Busch, Ueber das Verhalten einer Bacillenwolke im fließenden Wasser, p. 119. Fermi, Claudio, Alte und neue Methode zum Nachweis der proteolytischen Enzyme, p. 176. Kjer-Petersen, Ein „Objektträgerkorb“ zum Färben von 12 Objektträgern auf einmal, p. 191. Pringsheim, Hans H., Ueber die sogenannte „Bios-Frage“ und die Gewöhnung</p> | <p>der Hefe an gezuckerte Mineralsalznährlösungen, p. 111. Schneider, Otto, Experimentelle Untersuchungen über schweizerische Weidenrostpilze. (Schluß), p. 159. Štefan, Josef, Studien zur Frage der Leguminosenknöllchen, p. 131. Zikes, Heinrich, Ueber Anomalushefen und eine neue Art derselben (<i>Willia Wichmanni</i>), p. 97.</p> <p style="text-align: right;">Corrigendum, p. 192.</p> |
|--|--|

Zusammenfassende Uebersichten.

Nachdruck verboten.

Bakteriologische Butteruntersuchungen.

[Aus der bakteriologischen Untersuchungsstation der Stadt Stuttgart.
Vorstand: Stadtarzt Dr. Gastpar.]

Von **Adolf Beltz**,

Assistenten an der bakteriologischen Untersuchungsstation der Stadt Stuttgart.

Die Nahrungsmittel hygienisch einwandfrei auf den Markt zu bringen, ist ein Prinzip, das man zur Zeit mit allen Kräften zur Ausführung bringen will. Mit der Durchführung dieses Grundsatzes verbindet sich natürlicherweise eine eingehende Kontrolle der Nahrungsmittel, wie sie seitdem nicht bestand.

Von unseren Nahrungsmitteln brachte man hauptsächlich der Milch und ihren Produkten ein Hauptinteresse entgegen, weil sie Zersetzungen ausgesetzt sind, die ihre Ursache in der Regel in einer minderwertigen Behandlung haben und weil sie als vortreffliche Nahrungsmittel für sehr viele pathogene Bakterien einen guten Nährboden darstellen. Den Nachweis letzterer zu erbringen, ist der Hauptzweck der hygienischen Milchkontrolle, die aber mit den zur Zeit bestehenden Nachweismethoden vor eine ziemlich schwere Aufgabe gestellt ist. Die Kontrolle der Milch und ihrer Produkte sollte, wenn sie ihren Zweck vollständig erfüllen will, so ausgeführt werden können, daß der Konsument nur kontrollierte Ware in die Hand bekommt. Um diesen Zweck wiederum zu erreichen, darf sich die Kontrolle nicht bloß in einer Laboratoriumstätigkeit entfalten, sondern muß auch die Beaufsichtigung der Produktions- und Verarbeitungsstelle, des Transportes und Verkaufes einbegreifen. Die Milch und ihre Produkte auf dem ganzen Weg zum Konsumenten zu kontrollieren, ist praktisch unmöglich, weshalb die hygienischen Untersuchungen im Laboratorium nie ganz in Wegfall kommen können, wengleich die Laboratoriumstätigkeit in sehr vielen Fällen nur eine orientierende ist. Zu dieser orientierenden Tätigkeit gehören die Untersuchungen der Milch und ihrer Produkte auf Tuberkelbacillen.

Gelingt der Nachweis von Tuberkelbacillen, so kann in der Hauptsache nur nach einer Richtung hin gründliche Abhilfe geschaffen werden, nämlich in der Beschaffung eines gesunden Viehbestandes.

Die bakteriologischen Butteruntersuchungen, über die wir im Nachfolgenden Betrachtungen anstellen wollen, wurden in einer großen Anzahl von Städten bereits ausgeführt, wie aus nachfolgender Tabelle hervorgeht:

(Siehe Tabelle p. 194.)

Uebersieht man in dieser Zusammenstellung die Resultate der Forscher, so ist man über die Verschiedenheit der gefundenen Daten

| Jahr der Veröffentlichung der Untersuchungen | Autor | Art der Untersuchung | Zahl der untersuchten Proben | Tuberkelbacillenhaltig Proz. | |
|--|----------------------|----------------------|------------------------------|---------------------------------|--|
| 1890 | Brusaferro | Turin | 9 | 11,1 | |
| 1894 | Roth | Zürich | 20 | 10,0 | |
| 1896 | Schuchardt | Marburg | 42 | 0 | |
| 1896 | Baumgarten | Tübingen | ? | 0 | |
| 1897 | Obermüller | Berlin | 14 | 100,0 | |
| 1897 | Gröning | Hamburg | 17 | 47,0 | |
| 1897 | Himesch | Wien | ? | 0 | Erwähnt bei Markl und Grassberger |
| 1897 | Rabinowitsch | Berlin | 30 | 0 | |
| | | Philadelphia | 50 | 0 | |
| 1897 | Petri | Berlin | 102 | 32,3 | Davon entfallen auf Berlin 86 Proben mit 38,4 Proz., auf München 16 Proben mit 0 Proz. |
| 1897 | Hormannu. Morgenroth | Berlin | 10 | 30,0 | |
| 1899 | Rabinowitsch | Berlin | 15 | 13,3 | 1. Versuchsreihe |
| | | Aus derselben Quelle | ? | 87,5 | 2. " |
| | | | ? | 100,0 | 3. " |
| | | | 19 | 0 | 4. " |
| 1899 | Obermüller | Berlin | 10 | 80,0 | |
| 1899 | Korn | Freiburg | 17 | 23,5 | |
| 1899 | Ascher | Königsberg | 27 | 7,4 | (eigentlich 9 Proz., da nur aus 22 Geschäften stammend) |
| 1899 | Jäger | Königsberg | 6 | 33,3 | |
| 1899 | Coggi | Mailand | 100 | 2,0 | |
| 1899 | Weissenfeld | Bonn | 32 | 9,4 | |
| 1899 | Grassberger | Wien | 10 | 0 | |
| 1899 | Herbert | Tübingen | 43 | 0 | 1. Versuchsreihe. Proben vom Tübinger Markt. |
| | | | 58 | 0 | 2. Versuchsreihe. Proben aus allen Teilen Württembergs. |
| | | | 20 | 0 | 3. Versuchsreihe. Proben von Berlin. |
| | | | 5 | 0 | 4. Versuchsreihe. Proben von München. |
| 1900 | Abenhausen | Marburg | 39 | 0 | |
| 1900 | Hellström | Helsingfors | 9 | 16,7 | |
| 1900 | Pawlowsky | Kiew | 23 | 4,34 | |
| 1901 | Tobler | Zürich | 12 | 16,67 | Die tuberkelbacillenhaltigen entstammen einer Bezugsquelle. |
| 1901 | Lorenz | Dorpat | 30 | 0 | |
| 1901 | Markl | Wien | 43 | 0 | |
| 1901 | Herr u. Beninde | Breslau | 52 | 11,1 | |
| 1902 | Aujeszy | Budapest | 17 | 17,6 | |
| 1904 | Teichert | Posen | 40 | 30,55 | |
| | vgl. Schluß | | | | |

erstaunt und neigt vielleicht der Annahme zu, daß die ausgeführten Untersuchungen dadurch an Beweiskraft verlieren.

Demgegenüber ist hervorzuheben, daß der Vergleich der Untersuchungsergebnisse, zu dem man durch die Prozentzahlen angeregt wird, nur unter Berücksichtigung verschiedener Faktoren gestattet sein darf.

Außer der ungleichen Verteilung der Perlsucht unter dem Rindvieh, die sich naturgemäß in einem verschiedenen Gehalt der Milch und

deren Produkten an Tuberkelbacillen ausdrückt, muß erwähnt werden, daß die Angaben der Butterprobenzahlen bei vielen Autoren insofern anzuzweifeln ist, als die Forscher zum Teil nicht damit Rechnung getragen haben, daß eine und dieselbe Molkerei in den Städten verschiedene Verkaufsstellen mit ihren Produkten versieht, daß also dieselbe Butterprobe, von verschiedenen Läden bezogen, mehreremal als besondere Butterprobe aufgeführt werden konnte.

Daß die Untersuchung von 100 Proben unter sonst gleichen Umständen genauere Resultate ergibt, als die von 9 Proben, geht ohne weiteres hervor.

Ein weiterer Grund, der den Vergleich der Untersuchungen erschwert, liegt darin, daß die Mehrzahl der Forscher über die Beschaffenheit der von ihnen untersuchten Butter keine Angaben machten.

Die Bedingungen, welche durch das Alter, den Säuregrad, den Salzgehalt der Bakterien in der Butter gegeben sind, können manchmal von vornherein das Vorhandensein von virulenten Tuberkelbacillen als sehr unwahrscheinlich erscheinen lassen.

Heim, Gasperini, Laser, Dawson, Schmidt, Grassberger, Pettersson, Teichert, haben über die Bedingungen der Tuberkelbacillen in der Butter Versuche angestellt, gelangten jedoch zu verschiedenen Resultaten.

Heim fand Tuberkelbacillen, die er einer schwachsauren Butter beigemischt hatte, noch nach 30 Tagen entwickelungsfähig.

Gasperini vermengte Tuberkelbacillen mit Milch und fand in der daraus gewonnenen Butter noch nach 120 Tagen virulente Tuberkelbacillen.

Laser vermengte Tuberkelbacillen mit einer 3 Tage alten gesalzenen Butter und erzielte schon nach 11 Tagen negative Resultate mit Infektionsversuchen seiner Butter.

Dawson fand Tuberkelbacillen noch in einer 8 Monate alten Butter und behauptet, daß die Virulenz erst nach 3 Monaten abgeschwächt werde.

Pettersson wies mit Recht auf die Ungenauigkeit dieser eben erwähnten Untersuchungen hin, weil sie die Angaben über Salzgehalt, Alter, Säuregrad, Temperatur, bei welcher die Butter aufbewahrt wurde, Menge der zugefügten Bakterien, Alter der verwendeten Kulturen vermissen lassen.

Pettersson gelangte in 5 von ihm angestellten Versuchsreihen zu folgenden Resultaten:

1. Versuchsreihe: 3-wöchentliche Agarkulturen wurden mit 4 Proz. gesalzener, aus angesäuertem pasteurisierten Rahm bereiteter Butter vermengt. Präparate aus dem zur Injektion verwendeten Bodensatz zeigten im Gesichtsfeld 100 Tuberkelbacillen. Die Bakterien sind in der 28 Tage alten Butter noch virulent.

2. Versuchsreihe: 9 Wochen alte Tuberkelbacillenkulturen werden mit Butter aus pasteurisiertem Süßrahm vermengt, der 4 Proz. Chlor-natrium (Lake 17,6 Proz. NaCl) zugesetzt waren. Nach 21 Tagen sind die Tuberkelbacillen nicht mehr im stande, Krankheitserscheinungen im Meerschweinchen hervorzurufen.

3. Versuchsreihe: Butter derselben Sorte, wie bei der zweiten Ver-

suchsreihe, jedoch mit höherem Salzgehalte (Lake 29,3 Proz.) wurde mit derselben Menge Tuberkelbacillen von gleichem Alter wie bei 2. versetzt. Nach 7 Tagen war die Butter nicht mehr infektiös.

4. Versuchsreihe: 4 Proz. gesalzene Butter aus ungesäuertem, pasteurisierten Rahm wurde mit einer 3 Wochen alten auf Hesse-Agar gezüchteten Kultur versetzt, so daß sich in dem Bodensatz 5—8 Bacillen im Gesichtsfeld befanden. Nach 10 Tagen fehlte die Infektionsfähigkeit der Butter für Meerschweinchen.

5. Versuchsreihe: 200 g Butter von 4. wurden noch mit 4 g NaCl und mit derselben Menge Tuberkelbacillen gleichen Alters wie 4. versetzt. Nach 5 Tagen besteht noch Infektionsfähigkeit, jedoch nicht regelmäßig.

Nach diesen Versuchen ist die nach kurzer Zeit erfolgende Virulenzabnahme der Tuberkelbacillen in gesalzener Butter erwiesen.

Teichert fand unter seinen untersuchten Proben keine einzige, die sich nach mehr als 18 Tagen als infektiös erwies.

Daß die oben angeführten Versuche von Pettersson durch die relativ großen Mengen von Tuberkelbacillen, die zur Infizierung der Versuchsbutter angewandt wurden, nicht dem natürlichen Vorkommen von Tuberkelbacillen in der Butter entsprechen und daß es deshalb äußerst wahrscheinlich ist, daß die wenigen Tuberkelbacillen in kurzer Zeit in der Butter als einem ungünstigen Nährboden absterben, mag noch besonders erwähnt werden.

Ferner macht die Verschiedenheit der Injektionsmodi und der Präparation der Butter vor der Injektion einen Vergleich der einzelnen Untersuchungen äußerst schwierig.

Rabinowitsch und andere Autoren stellten, wie an anderer Stelle noch näher ausgeführt wird, vor der Injektion die Butter 12—24 Stunden in den Brutschrank, wodurch man einen sehr unerwünschten Einfluß auf die Lebensfähigkeit der etwa vorhandenen Tuberkelbacillen ausübte.

In neuerer Zeit fand das Obermüllersche Verfahren, den durch Zentrifugieren flüssiger Butter gewonnenen fettfreien Bodensatz zu injizieren, immer mehr Eingang.

Daß sich neben den Tuberkelbacillen andere säurefeste Stäbchen in der Butter vorfinden können, die durch ihre Fähigkeit bei Meerschweinchen häufig der Tuberkulose makroskopisch ähnliche pathologische Veränderungen, „Pseudotuberkulose“ hervorzurufen imstande sind, welche die Exaktheit der Untersuchungen also außerordentlich schmälern können, diese Erkenntnis verdanken wir den Untersuchungen Petris und Rabinowitschs vom Jahre 1896.

Brusaferro untersuchte 9 Butterproben vom Turiner Markt mit 22 Meerschweinchen, indem er jedem der letzteren ca. $\frac{1}{2}$ ccm bei 33° geschmolzener Butter mit einer Pipette intraperitoneal injizierte. Zwei Tiere starben an Tuberculosis zooglifica, zwei Tiere an echter Tuberkulose.

Roth setzte an Stelle des Tierversuchs eine Untersuchungsmethode, die jedoch nur bei Vorhandensein größerer Mengen von Tb. anwendbar ist.

„Zirka 2—4 g Butter werden mit einem kleinen Spatel, einem Glasstab oder dergl. in ein Reagenzglas gebracht, welches nachher zu

$\frac{3}{4}$ mit Wasser gefüllt und in ein Wasserbad von ca. 50° gestellt wird, bis das Fett vollständig geschmolzen ist. Dann verschließt man das Reagenzglas mit einem Pfropf oder einem eingeschliffenen Glasstöpsel und schüttelt einige Male durch, um die vorhandenen Tb. von den Fetttröpfchen zu trennen, kehrt das Reagenzglas um und stellt es mit dem Pfropfen nach unten in die Wärme, bis das Fett sich wieder vollständig ausgeschieden.“ Nachdem das Gläschen wieder in die Kälte gestellt, das Fett wiederum zum Erstarren gebracht wurde, wird der flüssige Inhalt zentrifugiert und aus dem Bodensatz werden Deckglaspräparate angefertigt. Zur Entfärbung der mit Karbol- oder Anilinwasserfuchsin gefärbten Präparate empfiehlt Autor 5-pröz. Schwefelsäure und 60-pröz. Alkohol. Da jedoch nach den Untersuchungen anderer Autoren die Acidoresistenz nicht nur dem Tuberkelbacillus, sondern auch anderen dem Tuberkelbacillus morphologisch ähnlichen Mikroorganismen eigen ist, kann das Verfahren Roths nicht den Tierversuch ersetzen.

Bei den Untersuchungen vom Jahre 1894 impfte Roth 3—25 ccm des geschmolzenen Butterfettes intraperitoneal den Meerschweinchen ein.

Beide positive Fälle von 20 Untersuchungen sind zweifelhaft, weil das eine Tier schon nach 17 Tagen eine hochgradige Tuberkulose des Netzes aufwies und das andere Tier nach 9 Wochen nur eine Tuberkulose des Peritoneums und Netzes zeigte.

Schuchardt verschaffte sich zu seinen Untersuchungen 42 Butterproben aus der Umgebung Marburgs. Die bei 36—37° geschmolzene Butter wurde in Mengen von 1—10 ccm in die Bauchhöhle von Meerschweinchen gespritzt. Einige Tiere gingen an Streptokokkenperitonitis zu Grunde, bei einem Versuchstier ließen sich an der Lunge tuberkulöse Veränderungen wahrnehmen, die aber, weil die Organe der Bauchhöhle völlig intakt waren, nicht auf die Butterinjektion zurückzuführen sind, sondern nur durch die auf dem Wege der Atmung acquirierten Infektion zu stande gekommen sein konnten. Zur Diagnose etwaiger tuberkulöser Erkrankung wurden Tuberkulininjektionen vorgenommen, doch führt Verfasser die trotz des negativen Befundes bei der Sektion bei einigen Tieren eingetretene Reaktion auf die zu hohe Tuberkulindosis zurück. Verfasser erwähnt die geringe Anzahl der Perlsuchtbefunde im Marburger Schlachthaus, welche die Richtigkeit seiner Untersuchungen bestätigen sollten.

Petri untersuchte im Jahre 1896 mit 408 Meerschweinchen 102 Butterproben, von denen 86 aus Berlin, 16 aus München stammten. 5 ccm der bei gelinder Wärme geschmolzenen Butter wurden streng aseptisch Meerschweinchen intraperitoneal injiziert. Der Sektionsbefund vieler nach 9—15 Tagen eingegangener Tiere war überraschend: „Die Oberflächen der Bauchorgane waren von peritonitischen Membranen überzogen, die Leber durch dicke Schwarten mit dem Zwerchfell verwachsen, die Milz in eine solche entzündliche Schwarte eingehüllt, das Netz aufgerollt, von Knoten durchsetzt, die Mesenterialdrüsen waren vergrößert und mit knotigen Auflagerungen ähnlicher Art besetzt; in der Bauchhöhle zuweilen etwas seröse Flüssigkeit, die Därme miteinander und der Bauchwand verklebt; die Sternaldrüsen, die Interkostaldrüsen vergrößert, mit käsigen Massen erfüllt. In diesen Massen sowie in den schwartigen Auflagerungen zeigte das Mikroskop eine Unzahl von Stäbchen, die sich färberisch den Tb. äußerst ähnlich verhielten.“ Die Kürze der Krankheitsdauer schloß Tuberkulose aus. Der

Versuch, aus den Schwarten die Stäbchen zu isolieren, gelang, wobei sich zeigte, daß die neuen Bacillen kulturell von echten Tb. verschieden sind, tinktoriell jedoch eine große Aehnlichkeit mit letzteren aufweisen.

Petri überimpfte kleine Stückchen des pathologisch entarteten Gewebes in das Unterhautgewebe von Meerschweinchen und konstatierte, daß die neu gefundenen Stäbchen für Meerschweinchen (Kaninchen, Hühner) im eigentlichen Sinne nicht pathogen waren, da die Impfung keinerlei pathologische Erscheinungen hervorriefen. Petri stellte, um den scheinbaren Widerspruch der gefundenen Resultate aufzuheben, verschiedene Versuche an, indem er Reinkultur der neuen Stäbchen, Tuberkelbacillen mit und ohne sterile Butter, Tieren injizierte, wobei sich herausstellte, daß die Injektion von Tb. mit steriler Butter nicht, wie man annehmen sollte, echte Tuberkulose hervorrief, sondern daß der Obduktionsbefund dem für die neuen Stäbchen eigentümlichen Befund glich.

Petri faßte seine Erfahrungen betr. den Nachweis von Tb. in der Butter folgendermaßen zusammen: „Man verimpfe etwa 5 ccm der flüssigen Butter auf Meerschweinchen und beobachte die Tiere etwa bis zum 60. Tag oder länger. Tiere, welche eingehen, sowie die zum Abschluß des Versuchs getöteten, werden sorgfältig obduziert. Finden sich Stäbchen, welche die Tb-Färbung darbieten, so ist ein Kontrollversuch durch subkutanes Verimpfen auf Meerschweinchen mit dem verdächtigen Material anzustellen, dessen Ausfall darüber entscheidet, ob echte Tuberkulose vorlag, oder eine Täuschung durch die neuen Stäbchen. In Fällen ganz ausgesprochener typischer Tuberkulose mag diese Kontrollprüfung unterbleiben, zumal die nachträgliche Prüfung der Schnitte die Tuberkulose bestätigen kann. Wenn möglich, ist mit dem Material ein Kulturversuch anzustellen, um die neuen Stäbchen in Reinkultur zu bekommen. Spärliche Tuberkelbacillen neben einer großen Anzahl der neuen Stäbchen können nur durch den Tierversuch herausgefunden werden.“

Von den 102 Proben waren:

| | | |
|--------------------------------------|---------|-------|
| ohne Tb. und ohne das neue Stäbchen | 31=30,4 | Proz. |
| mit Tb. allein | 17=16,7 | „ |
| mit Tb. und den neuen Stäbchen . . . | 16=15,7 | „ |
| mit dem neuen Stäbchen allein . . . | 38=37,2 | „ |

Die Doppelfärbung der in Spiritus gehärteten Schnittpräparate gelang niemals in tadelloser Weise, wie es bei den echten Tb. der Fall ist. Die neuen Stäbchen lagen in Haufen zusammen und kamen nicht, wie die echten Tb. in Riesenzellen vor. Kulturell zeichnen sich die neuen Stäbchen durch üppiges Wachstum auf den üblichen Nährböden und durch gelbe Farbstoffbildung aus.

Rabinowitsch untersuchte Butterproben Berlins und Philadelphias auf Veranlassung Kochs, dem Petri zur Zeit seiner Untersuchungen über die neuen Stäbchen hatte Mitteilung ergehen lassen. Die Untersuchungen Rabinowitschs bestätigten die Resultate Petris betr. das häufige Vorhandensein von „Pseudotuberkelbacillen“ in der Marktbutter.

Rabinowitsch verfuhr bei ihrer Untersuchung nach einer Methode, die von verschiedener Seite einer Kritik unterzogen wurde. Sie stellte die Butter in sterilen Doppelschälchen 12—24 Stunden in den Brutschrank bei 34° C und impfte von den drei sich bildenden Schichten

2—5 ccm je einem Meerschweinchen in die Bauchhöhle. Später injizierte sie die Mischung der Butterflüssigkeit den Meerschweinchen. Das Resultat der Untersuchungen war, daß keines der Tiere an echter Tuberkulose einging oder bei der Sektion tuberkulöse Veränderungen zeigte, daß dagegen 28,7 Proz. der Butterproben Erscheinungen hervorriefen, „die sowohl makroskopisch wie mikroskopisch das Bild der echten Tuberkulose vertäuschen konnten, jedoch bei genauer Untersuchung sich mit Leichtigkeit von derselben unterschieden.“ Rabinowitsch beschreibt ihren Bacillus als ein unbewegliches, manchmal mit keulenförmiger Anschwellung versehenes Stäbchen. Tinktoriell (Färbung nach Ziehl-Neelsen, Ehrlich, Bunge, Trantenroth, Honsell) ließ sich zwischen den Originalkulturen, die teilweise ein Jahr lang auf künstlichen Nährböden fortgezüchtet waren und echten Tuberkelbacillen kein Unterschied wahrnehmen. Auch bei der Entfettung durch konz. Kalilauge und Aether oder Alkohol und Aether behielten die neuen Stäbchen ihre Säurefestigkeit. Der neue Bacillus weist gegenüber dem Tuberkelbacillus in kultureller Beziehung große Unterschiede auf. Wachstum der neuen Stäbchen auf allen gebräuchlichen Nährböden bei Zimmer- und Bruttemperatur, kann schon nach 2—3 Tagen konstatiert werden, außerdem sind die neuen Stäbchen vom Tb. durch Bildung eines gelben bis kupferroten Farbstoffes differenziert. Der Sektionsbefund der Tiere, die bei ihrer Tötung nach 3—4 Wochen Pseudotuberkulose zeigten, ist folgender: „Leicht aufgetriebenes Abdomen, Peritonitis von leichter Fibrinausscheidung bis zu festen bindegewebigen Verwachsungen der Bauchorgane. Das ganze Peritoneum und Mesenterium ist von Knötchen durchsetzt. Unter der Serosa der Darmwände schimmern zahlreiche kleine, graue Knötchen hervor. Die Mesenterialdrüsen sind bedeutend geschwollen, zum Teil enthalten sie eitrig-käsigen Inhalt. Die Leber ist mit Auflagerungen und Knötchen bedeckt, die sich zuweilen ganz wie Fremdkörper aus dem gesunden Lebergewebe herausheben lassen, oder mehr oder weniger ins Leberparenchym hineinwuchern. Die Milz ist in leichten Fällen nur vergrößert, bisweilen aber gerade im Gegensatz zur Leber von Knötchen dicht durchsetzt. Die Nieren zeigen gleichfalls die gelblichen Auflagerungen. Die Lungen zeigen mitunter zahlreiche, durchsichtige, kleine Knötchen, dieselben stellen aber nur oberflächliche Einlagerungen dar, ohne ins Lungengewebe selbst einzudringen; die Sternaldrüsen sind mitunter geschwollen, zeigen aber keine Verkäsung. In den Drüsen und Knötchen, sowie in den befallenen Organen lassen sich zahlreiche Tb. ähnliche Bakterien sowohl durch Ausstreichpräparate, als auch kulturell nachweisen. Im Blute sind sie nur spärlich vorhanden, so daß man zu ihrem Nachweis des Kulturverfahrens bedarf.“ Rabinowitsch spricht die von anderen Autoren bestätigte Meinung aus, daß die von den „Pseudo-Tb.“ erzeugten pathologischen Veränderungen zuweilen zurückgehen können. Die Erscheinungen, welche die intraperitoneale und subkutane Impfung von Reinkultur auf Meerschweinchen (Kaninchen und weiße Mäuse erwiesen sich refraktär) manchmal hervorbringt, sind geringfügiger, als bei den mit Butter geimpften Tieren. Tuberkulin ruft bei den an Pseudotuberkulose erkrankten Tieren keine Reaktion hervor. Die histologische Untersuchung gestattet uns, nach Rabinowitsch, leicht die Pseudotuberkulose von echter Tuberkulose zu unterscheiden, da die typischen Riesenzellen mit wandständigem Kern, Epitheloidzellnester und typische

tuberkulöse Verkäsungen der Pseudotuberkulose fehlen. Der Prozeß trägt nach Rabinowitsch einen mehr exsudativen als proliferativen Charakter. In den Schnitten erweisen sich die Tb. ähnlichen Bacillen weniger resistent als die echten Tb. Bei der Weiterverimpfung pseudotuberkulös erkrankter Organe auf Meerschweinchen sollen nach Rabinowitsch „die gleichen, den ganzen Organismus überflutende Verheerungen auftreten“.

In 31,2 Proz. fand Rabinowitsch Pseudotuberkelbacillen, in 0 Proz. echte Tb., was sie zu der Vermutung veranlaßt, daß die von ihr beschriebene Bakterienart in früheren Arbeiten die echte Tuberkulose vorgetauscht hat. Bei den späteren Untersuchungen gelangt Rabinowitsch zu wesentlich anderen Resultaten. Sie fand, wie Obermüller, daß „eine bedeutende Berliner Butterhandlung fast ausschließlich Tb-haltige Butter in den Handel bringt.“

Horman und Morgenroth untersuchten 10 Butterproben mit 45 Tieren. Bei 6 Proben injizierten sie intraperitoneal Meerschweinchen 4—5 ccm der bei 37° geschmolzenen Butter, 3 weitere Proben wurden zentrifugiert und der fettfreie Bodensatz intraperitoneal injiziert. Bei einer Butterprobe verfahren die Autoren in verschiedener Weise: 4 Tiere wurden mit flüssiger Butter geimpft, 4 weitere Tiere mit der 24 Stunden im Brutschrank aufbewahrten Butter, außerdem wurde die Butter ausgewaschen und das Waschwasser zentrifugiert und der entstandene Bodensatz 2 Meerschweinchen in die Bauchhöhle injiziert. In 3 Fällen fiel der Tierversuch positiv aus und konnten aus den erkrankten Organen Reinkulturen von Tb. isoliert werden. In 4 Fällen waren die Organe deutlich tuberkulös, jedoch mißlang der Kulturversuch. In 8 Fällen erinnerte das Krankheitsbild nur entfernt an Tuberkulose, jedoch konnte nur in einem derselben ein säurefester Bacillus isoliert werden, der sich kulturell und morphologisch als identisch mit dem von Rabinowitsch beschriebenen säurefesten Stäbchen erwies. In einem Fall konnten aus einem Tier Pseudotuberkelbacillen und echte Tb. in Reinkultur isoliert werden. Pathologische Veränderungen konnten durch intraperitoneale Injektion von Reinkultur bei Meerschweinchen hervorgerufen werden. Jedoch scheint den Autoren eine Verwechslung mit echter Tuberkulose nicht möglich. „Es handelt sich um peritonitische Erscheinungen, die eine entschiedene Neigung zur Heilung zeigen und daher bei der Sektion um so mehr in den Hintergrund treten, je länger das Tier gelebt hat.“ Injektion in die vordere Augenkammer von Kaninchen zogen außer allgemeinen, bald zurückgehenden Entzündungserscheinungen keine krankhaften Veränderungen nach sich. Horman und Morgenroth halten es nicht für angängig, eine tuberkelbacillenfremde, jedoch Pseudotb. enthaltende Butter, wie es von Rabinowitsch geschieht, als unverdächtig zu bezeichnen, da das Fehlen der Pathogenität der Pseudotb. für den Menschen noch nicht erwiesen sei.

Obermüller untersuchte in verschiedenen Jahren die Berliner Marktbutter und wandte zum erstenmal zur Injektion den durch längeres Zentrifugieren gewonnenen vom Fette befreiten Bodensatz an, da die meisten der mit geschmolzener Butter in Mengen von 3—5 ccm intraperitoneal injizierten Tiere an Peritonitis eingingen. Sein Verfahren schildert Verfasser folgendermaßen: „Bevor die Butter in die Zentrifuge gesetzt wird (als Zentrifuge verwandte Obermüller eine Stenbeck-Littensche, von Lautenschläger und ihm verbesserte Zentrifuge mit

2800—3200 Umdrehungen in der Minute), wird sie flüssig gemacht, geschmolzen, zu diesem Behufe in eine sterile Porzellanschale getan und letztere in eine Schale mit Wasser gesetzt, diese vorsichtig erwärmt, bis ein in die Butter gehaltenes Thermometer (dieses wird vorher mit aseptischer Watte gründlich abgewischt, in Sublimat gelegt und mit sterilem Wasser abgespritzt) 38° zeigt, die geschmolzene Butter wird tüchtig umgerührt und in die Schleudergläschen ausgegossen, welche vorher ebenfalls auf 38—40° angewärmt sind. Sofort wird nunmehr auf 10 Minuten zentrifugiert, alsdann werden die Schleudergläschen abgenommen, in ein mit 38—40° warmem Wasser gefülltes Becherglas auf 10 Minuten gebracht, alsdann werden die Gläschen wieder in die Zentrifuge eingesetzt und aufs neue 10 Minuten zentrifugiert. Es zeigt sich dann in denselben eine größere hellgoldgelbe Fettschicht, unter welcher eine Art Buttermilch gelagert ist. Diese Fettschicht wird so gut wie möglich durch Abgießen entfernt. Die Röhrchen werden nochmals im Wasserbade auf 37—38° erwärmt (etwa 5—6 Minuten) und dann eine Minute zentrifugiert, vorsichtig wieder abgenommen und auf 5 Minuten in ein Becherglas gestellt, in welchem sich haselnußgroße Eisstückchen befinden; hier bildet sich über der Buttermilch ein kleiner Fetttropfen, welcher mit einem sterilen Häkchen herausgezogen wird.“ Den übrigen Inhalt in Mengen von 0,5—2 ccm (äquivalent ca. 4—16 ccm Butter) verwandte Obermüller zur Injektion.

Unter 10 Butterproben gelang es Obermüller bei 4 echte Tb. in Reinkultur aus den pathologisch veränderten Organen der injizierten Tiere zu isolieren. Bei der histologischen Untersuchung fand Obermüller stets gleichmäßig und mit gleicher Intensität gefärbte säurefeste Bacillen. In vielen Schnittpräparaten, namentlich aus den Knoten des Netzes und der Leber, gelang Obermüller der Nachweis von Riesenzellen mit randständiger Kernstellung und charakteristischer Anordnung der Bacillen. Intraperitoneale Ueberimpfung der Reinkulturen auf Meerschweinchen erzeugte typische Tuberkulose der Bauchorgane.

Bei weiteren Untersuchungen fand Obermüller in fast allen Fällen seine Butter mit Tb. infiziert. Die Resultate Obermüllers kontrastierten mit den von Rabinowitsch und Petri erzielten Ergebnisse. Rabinowitschs Angriffe sind zur Genüge bekannt, jedoch sind sie insofern belanglos, weil Rabinowitsch und Petri auf die unzweideutigen histologischen Untersuchungen, verbunden mit der von späteren Autoren als ausgezeichnet befundenen Zentrifugiermethode, keinen Bezug nehmen.

Korn untersuchte mit 59 Meerschweinchen 20 Butterproben vom Freiburger Markt. Autor verfuhr bei seiner Untersuchung nach der Methode, daß er 50 g des Kernes und 50 g der Außenseite der Butter bei 37° schmolz und 4 ccm der Mischung in die Bauchhöhle von Meerschweinchen injizierte. 3 Proben müssen wegen Tod der Versuchstiere an Peritonitis ausgeschaltet werden. Unter den übrigen 17 Proben konnten in 4, also in 23,5 Proz. durch Reinkultur und Ueberimpfung erkrankter Organe auf Meerschweinchen Tb. nachgewiesen werden. Von einer histologischen Untersuchung wurde abgesehen, da Riesenzellen auch bei echter Impftuberkulose fehlen können. Korn isolierte aus einer Butterprobe einen säurefesten Bacillus, der eine koliähnliche Form besitzt. Auf gekochten Kartoffeln zerfallen die Stäbchen in Kokken, Diplokokken und Kurzstäbchen. Der Bacillus ist grampositiv, färbt sich

nach Ziehl-Neelsen, zeigt aber geringere Acidoresistenz als der Tb. Tierpassage sistiert seine spezifische Färbbarkeit nicht. Kulturell ist der Bacillus vom Tb. durch sein schnelles Wachstum bei Zimmer- und Bruttemperatur, sowie durch seine Bildung von hellkupferfarbigen Farbstoff leicht zu unterscheiden. Verfütterung, subkutane und intraperitoneale Injektion von Reinkultur führen keine Allgemeininfektion herbei. Auch bei Ueberimpfung erkrankter Organteile erwiesen sich die Organe der Brust und Bauchhöhle immer als normal. Intraperitoneale Injektion von Reinkultur ruft bei weißen Mäusen und Ratten eine Krankheit hervor, die mit der Tuberkulose fast vollständig identisch ist.

Ascher verfuhr bei der Untersuchung der Königsberger Butter zum Teil nach der Methode Rabinowitsch, zum Teil nach der von Obermüller. Säurefeste Petri-Stäbchen konnten nicht gefunden werden, hingegen gelang bei 2 Proben der Nachweis von Tb. Ascher fand bei der histologischen Untersuchung Epitheloidzellnester, Langhanssche Riesenzellen, sowie säurefeste Stäbchen in letzteren. Der Kulturversuch von Tb. mißlang in beiden Fällen.

Jaeger untersuchte Milch und Butter eines großen Krankenhauses in Königsberg auf die Gegenwart von virulenten Tb. Zu Anfang seiner Arbeit stellt Autor Betrachtungen an über die Möglichkeit tuberkulöser Infektion des Lymphsystems durch Milch und Milchprodukte und beantwortet die Frage der intestinalen Infektion dahin, „daß gerade sie es ist, welche das System der Hals-, Bronchial- und Mesenterialdrüsen anhaltend bedroht, und das um so mehr, je häufiger Tb. in unseren, dem täglichen Konsum dienenden Nahrungsmitteln sich vorfinden.“

Jaeger stellte die Butter zum Schmelzen in den Brutschrank, injizierte intraperitoneal 4–5 ccm einem Meerschweinchen, untersuchte mit 5 Meerschweinchen 3 Butterproben und fand in einer der letzteren Tb. Das betreffende Versuchstier zeigte Verwachsung der Milz mit Niere durch peritonitische Stränge, Einlagerung eines erbsengroßen derben, im Innern verkästen Knoten. Subkutane Verimpfung eines Knotenstückchens auf ein Meerschweinchen erzeugte ausgedehnte Tuberkulose der Milz, Leber, Lunge und Bauchhöhle. Ausstrich, Kultur und Schnittpräparate zeigten Tuberkelbacillen.

Weissenfeld untersuchte mit 64 Tieren 32 Butterproben, die teils aus Molkereien Rheinlands, Westfalens und Hollands stammten, teils von Bäuerinnen aus der Umgegend Bonns geliefert wurden. Autor verfuhr bei der Injektion nach der Obermüllerschen Methode. 3 Proben verursachten Tuberkulose, 7 Pseudotuberkulose. Den makroskopischen Befund bei letzterer beschreibt Weissenfeld folgendermaßen: „Anscheinend tuberkulöse Peritonitis. Verwachsung der Gedärme untereinander. In der Gegend der Einstichstelle eine ungefähr markstückgroße nekrotische Stelle. Gewebe ganz verkäst. Ungemein zahlreiche feine Knötchen in der Leber, oberflächlich und auf Durchschnitten. Leber nicht sehr vergrößert, von dunkler Farbe. Milz weich, von kleinen Knötchen durchsetzt, nicht besonders stark vergrößert. Mesenterialdrüsen stark vergrößert, verkäst, desgl. die Drüsen in der Inguinalgegend stark vergrößert und verkäst. An den Nieren nichts Abnormes, nur in einem Falle waren die Nebennieren stark vergrößert. In der Lunge fanden sich massenhaft miliare graue Knötchen.“ Ausstrichpräparate zeigten plumpe Stäbchen mit verdickten Enden, nach Gram nicht färbbar. Kontrolltiere mit Stückchen aus Milz, Leber oder Drüsen subkutan ge-

impft, weisen bei der Tötung nach 14 Tagen sämtlich die eben beschriebenen pseudotuberkulösen Veränderungen auf.

Herbert untersuchte 126 Butterproben mit 111 Versuchstieren. 40 Butterproben konnten nicht in Betracht gezogen werden, weil die Versuchstiere an akuter Peritonitis zu Grunde gingen. Die in 21 Proz. gefundenen Pseudotuberkelbacillen hält Herbert identisch mit denen von Petri und Rabinowitsch. Direkt durch Aufstreichen der Butter auf Gelatineplatten die Pseudotb. zu isolieren, mißlang in allen Fällen. Das Verfahren von Roth, den durch Zentrifugieren gewonnenen fettfreien Bodensatz auf säurefeste Stäbchen zu untersuchen, konnte den Tierversuch nicht ersetzen. Herbert schmolz seine Butter im Brutschrank bei 37° und injizierte von dem Gemisch der Schichten 5 ccm in die Bauchhöhle von Meerschweinchen. In der ersten Versuchsreihe wurden 43 Butterproben vom Tübinger Markt, deren Herstellungsort genau bekannt war, mit 38 Tieren untersucht, die entweder an Peritonitis starben oder nach 4—6 Wochen seziert, normale Verhältnisse zeigten. In der zweiten Versuchsreihe bezog Herbert seine Butterproben aus den verschiedensten Teilen Württembergs, vom Ober- und Unterland, von der Alb, vom Schwarzwald und von den hohenlohischen Landen. Von den mit 43 Versuchstieren untersuchten 58 Proben fallen 15 weg, weil die Versuchstiere an Peritonitis starben. 5 mal, d. h. in 13,2 Proz., fand Herbert säurefeste Pseudotb. Da diese 5 Butterproben sich nur auf zwei Orte, (Stuttgart und Honau) verteilen, glaubt Herbert sagen zu dürfen, daß, wenn eine Butterprobe eines Ortes mit Pseudotb. infiziert war, gleich mehrere Proben aus verschiedenen Quellen, jedoch von demselben Orte ebenfalls damit infiziert waren, was mit den Resultaten übereinstimmt, zu denen er durch Untersuchung der Berliner und Münchener Butter gelangte. In 20 Proben von verschiedenen Verkaufsstellen Berlins stammende Butter konnte er, abgesehen von den 4 an Peritonitis verstorbenen Tieren, in 50 Proz. Pseudotb. nachweisen und von den 5 von München bezogenen Proben gelang ihm der Nachweis in 4, d. h. in 80 Proz. derselben. Ob es ein Zufall ist, daß nur die Butterproben, die aus großen Städten (Berlin, München, Stuttgart abgesehen von Honau) stammten, mit Pseudotb. infiziert waren, oder ob dieser Umstand mit bestimmten Verhältnissen in ursächlichem Zusammenhang steht, stellt der Verfasser weiteren Untersuchungen anheim. Die von Herbert isolierten säurefeste Pseudotb. sind morphologisch voneinander verschieden, was ihn, wie es auch Petri vermutete, zu der Annahme veranlaßte, daß es sich um mehrere Arten säurefester Pseudotb. handle. Jedoch ergab die Züchtung dieser Arten auf künstlichen Nährböden eine Abnahme an morphologischer Aehnlichkeit mit den echten Tb., während in der Säurefestigkeit kein Unterschied wahrgenommen werden konnte. In kultureller Beziehung sind die Pseudotb. von den echten Tb. leicht zu unterscheiden. Die pathologischen Veränderungen, die durch diese Pseudotb. in der Bauchhöhle von Meerschweinchen hervorgerufen werden, sind nach der Ansicht Herberts makroskopisch leicht von miliärer Tuberkulose zu differenzieren, insofern, als die nur spärlich vorkommenden miliaren Knötchen von anderem Aussehen als echte Miliartuberkel sind. Mikroskopisch vermißt man typische, epitheloide und Riesenzelltuberkel. Die manchmal vorhandenen epitheloiden und Riesenzellen kommen nicht in der charakteristischen Gruppierung der Tuberkel vor und werden von dem Verfasser, in Ueber-

einstimmung mit den späteren Untersuchungen Grassbergers, mehr auf die injizierten Fettmassen (als Fremdkörper) als auf die Butterbacillen bezogen. An Stelle der Verkäsung findet man zentrale eiterartige Schmelzung im Granulationsherd, was den Verfasser der Meinung Rabinowitschs beistimmen läßt, daß nämlich der krankhafte Prozeß histologisch dem Rotz näher stehe als der Tuberkulose. Wichtig für das etwaige Gelingen, einer tinktoriellen Differentialdiagnose scheint dem Autor der Umstand, daß in Alkohol-Schnittpräparaten bei Anwendung des Koch-Ehrlich'schen Färbungsverfahrens die in den Schnitten schwer nachzuweisenden Pseudotb. nur teilweise die spezifische Färbung behalten, so daß ein anderer Teil der Bacillen die Kontrastfarbe annimmt, was bei den echten Tb. nie vorkommt. Herbert stellt durch die negativ ausgefallenen Infektionsversuche an sich selber (subkutane Verimpfung von Reinkultur in die Fingerbeere) die Pathogenität seiner Stäbchen für den Menschen in Abrede.

Für meine eigenen Untersuchungen hatte die Arbeit Herberts insofern großes Interesse, als Herbert teilweise Butterproben aus Württemberg untersuchte. Er bezeichnet das Vorkommen des echten Tuberkelbacillus in der schwäbischen Butter auf Grund seiner Untersuchungsergebnisse als ein sehr seltenes, trotzdem die Perlsucht unter dem schwäbischen Rindvieh sehr verbreitet sei. Herbert glaubt durch seine Untersuchungen das Publikum vor einer Infektionsgefahr durch die Butter beruhigen zu können und zieht weiterhin den Schluß, daß „die allgemeinen hygienischen Gesichtspunkte der Butterbereitung im Schwabenlande genügende Berücksichtigung finden.“ Welche „allgemeinen hygienischen Gesichtspunkte“ der Autor damit meint, geht aus seiner Arbeit nicht hervor. Auf Grund meiner hygienischen Studien über das württembergische Molkereiwesen möchte ich die gegenteilige Behauptung aufstellen. Hygienische Gesichtspunkte, wie sie in der Praxis hauptsächlich durch Pasteurisieren des Rahmes, sanitäre Aufsicht des Viehes, Tuberkulinimpfungen dargestellt werden, sind bis jetzt in verschwindend geringem Maße oder gar nicht in den Bereich des württembergischen Molkereiwesens gezogen worden.

Abenhausen untersuchte 1899 39 Butter- (ungesalzene) und 7 Margarineproben aus den verschiedensten Marburger Geschäften. Zur Untersuchung verwendete er 96 Meerschweinchen. Die Butter wurde auf 40° erwärmt und einige Stunden stehen gelassen. Von den 3 dabei entstandenen Schichten wurden zu Anfang der Untersuchungen je 5 ccm einem Meerschweinchen intraperitoneal injiziert, bei späteren Untersuchungen wurde die Butter sofort nach der Verflüssigung 2 Tieren eingespritzt. Durch Anwendung des Zentrifugierverfahrens bei 23 Proben konnte Verfasser keinen Einfluß auf die Mortalität der Tiere an Peritonitis ausüben. Bei 14 Proben gingen beide Versuchstiere an Peritonitis ein, so daß für das Resultat nur 29 Butter- und 3 Margarineproben mit 45 Tieren in Betracht kommen. Mit Ausnahme dreier Tiere war der Befund in Bezug auf Tuberkelbacillen ein völlig negativer. Bei einem Tiere konnte eine tuberkulöse Veränderung der Milz konstatiert werden. Intraperitoneale Injektion eines Teiles der Milz rief eine typische Tuberkulose hervor. Da jedoch an den Lungen des mit Butter geimpften Tieres große Tuberkelknoten nachzuweisen waren, so führt Verfasser die Erkrankung auf eine Infektion von der Luftröhre aus zurück, wie dies bei den zwei anderen Tieren auch der Fall war, die nur eine Er-

krankung der Lungen aufwies, während die Injektionsstelle und die Bauchorgane als völlig normal befunden wurden.

Bonhoff führt im Gegensatz zu anderen Autoren in einem Referat über die Arbeit *Abenhausens* an, daß er sehr oft eine spontane Erkrankung der Meerschweinchen an Lungentuberkulose konstatieren konnte.

In 3 Fällen fanden sich tuberkelbacillenähnliche Stäbchen, die jedoch keine Säurefestigkeit besaßen. Interessant ist der Tod eines Versuchstieres an typischem Milzbrand. Eine Infektion des Tieres im Laboratorium oder Tierstall hält Verfasser für ausgeschlossen. Die Resultate *Abenhausens* decken sich im negativen Befunde in Bezug auf Tuberkelbacillen und anderen säurefesten Stäbchen mit den Untersuchungen *Schuchardts*.

Hellström weist in seiner Arbeit „Ueber Tuberkelbacillen in Butter“ mit Recht auf das Fehlen der Angaben über Alter, Beschaffenheit und Herstellungsweise der untersuchten Butter bei den Autoren hin. Er untersuchte 12 Butterproben zum Teil aus pasteurisiertem Rahm mit 30 Tieren. Hellström ist der Meinung „daß nicht das Butterfett als solches die Ursache der größeren Mortalität der Meerschweinchen ist, sondern daß die relative (z. B. im Verhältnis zu Wasser) schwerere Resorbierbarkeit desselben die natürliche Schutzkraft des Peritoneums mehr herabsetzt.“ Hellström injizierte zentrifugierte und nicht zentrifugierte Butter. Sehr viele Tiere starben an Peritonitis, ein Tier zeigte bei der Obduktion typische tuberkulöse Veränderungen.

Pawlowsky impfte mit 23 Butterproben 54 Tiere. Ein Tier erkrankte an typischer Tuberkulose, 3 zeigten Knötchen, die Petri-Stäbchen aufwiesen.

Maria Tobler untersuchte mit 40 Meerschweinchen 12 Butterproben, bezogen von verschiedenen Molkereien und Läden der Stadt Zürich. 2 Proben stammten aus demselben Geschäft. Die Butter wurde in Mengen von 100—500 g im Brutschrank verflüssigt, tüchtig durchmischt und bis zur Ansammlung des klaren Fettes an der Oberfläche stehen gelassen. Von diesem wurden zur intraperitonealen Injektion eines Tieres 4—5 ccm benützt. Sodann wurde das Fett zum größten Teil entfernt, der Rest mit dem Bodensatz vermengt und in Mengen von 2—5 ccm weiteren Tieren subkutan oder intraperitoneal injiziert. Ferner wurde fettfreier Bodensatz zur Injektion verwendet, der nach der Methode von Roth durch Ausschütteln von 5 g Butter mit sterilem Wasser und nachfolgendem Zentrifugieren gewonnen worden war. In 2 von 12 Proben konnte bei je einem Versuchstier eine tuberkulöse Erkrankung durch Kultur- und erneuten Tierversuch konstatiert werden. Von 3 intraperitoneal und 2 subkutan geimpften Tieren konnten 5 verschiedene, mehr oder weniger säurefeste tuberkelbacillenähnliche Mikroorganismen in Reinkultur isoliert werden. In einem Falle war ein knötchenbildender Krankheitsprozeß makroskopisch zu erkennen, jedoch fiel der bakteriologische Befund völlig negativ aus. In einer weiteren Serie wiesen 2 Tiere eine geringe extensive Erkrankung auf, mikroskopisch konnten säurefeste Stäbchen nachgewiesen werden, jedoch mißlang der Kulturversuch. Von 12 Proben ergaben demnach nur 5 ein völlig negatives Resultat.

Der erste von Tobler isolierte säurefeste Bacillus (*Bacillus I*)

stellt ein Stäbchen von wechselnder Länge dar, häufig mit kolbenartigen Auftreibungen. Die Färbbarkeit nach Gram ist sehr gut ausgebildet, auch bei der Entfärbung nach Czaplewski wird die rote Farbe von ihm beibehalten. Bei längerer Einwirkung von Alkohol zeigt sich der Bacillus weniger resistent. Auf Glycerin-Agar ist nach 4—6 Tagen die ganze Oberfläche mit einem sattgelben Belag bewachsen. Intraperitoneale Injektion von Reinkultur in geringer Menge oder von Aufschwemmungen erkrankter Organe bewirken Vergrößerung und Erweichung der inguinalen und mesenterialen Drüsen, sowie Knötchenbildung im Peritoneum. Gleichzeitige Injektion von Reinkultur und steriler Butter erzeugt schwartige Peritonitis. Injektion von Reinkultur in die Bauchhöhle eines Kaninchens bewirkte eine „tuberkuloseähnliche Erkrankung des Peritoneums und der Drüsen mit Bildung von verkästen Knötchen auch am Zwerchfell“. Typische Riesenzellen konnten in den Knötchen, die sehr selten Verkäsung zeigen, nicht gefunden werden; jedoch weist Tobler auf den Zusammenhang von Riesenzellen und protrahierter Tuberkulose hin, da dieselben bei Impftuberkulose häufig fehlen. Bacillus I ist vielleicht identisch mit Möllers Graspilz II.

Bacillus II ist ein Stäbchen von wechselnder Länge und Dicke, häufig mit kolbenförmigen Auftreibungen und gekörnten Formen. Bei längerer Säurewirkung ist der Bacillus weniger resistent als Bacillus I, auf Hesse-Agar blaß-braunrosa Farbe bildend. Injektion von Reinkultur mit sterilem Fett erzeugt bei Meerschweinchen akute schwartige Peritonitis mit Metastasen der Bacillen ins Parenchym der Unterleibsdrüsen und in die Brusthöhle. Intraperitoneale Injektion von Aufschwemmungen erkrankter Drüsen ruft bei Meerschweinchen eine Erkrankung hervor, die sich in der Bildung von Knötchen im Netz und in der Vergrößerung von Drüsen zu erkennen gibt.

Bacillus II ist vielleicht identisch mit dem Stäbchen von Petri-Rabinowitsch.

Bacillus III, ein Stäbchen von wechselnder Länge, zeigt selten Auftreibungen und Auswachsungen. Das Stäbchen ist sehr gut nach Gram färbbar, entfärbt sich nach Czaplewski, zeigt in frischen Kulturen geringe Beweglichkeit und entwickelt auf Glycerinagarstrichkulturen nach wenigen Tagen einen mennigroten Farbenton. Der makroskopische wie histologische Befund bei dem Tiere, aus dessen Organen der Bacillus III isoliert wurde, war dem der echten Tuberkulose äußerst ähnlich. Leider wurde von einer Ueberimpfung erkrankter Organe auf weitere Versuchstiere abgesehen. Ob Bacillus III identisch ist mit dem ebenfalls ziegelroten Farbstoff bildenden von Ascher, Hormann-Morgenroth und Grassberger beschriebenen, zum Teil säurefesten Stäbchen, muß dahingestellt werden.

Bacillus IV und Bacillus V sind vermutlich identisch mit Bacillus II und III.

Tobler spricht in dem Schlußwort ihrer Arbeit ihre Meinung bezüglich der Differentialdiagnose der „Pseudotuberkulose“ und der echten Tuberkulose dahin aus, daß sie eine Verwechslung des Krankheitsbildes, das die tuberkelbacillenähnlichen Stäbchen verursachen, mit typischer fortgeschrittener Tuberkulose für ausgeschlossen hält. Jedoch glaubt Autor zur sicheren Diagnose namentlich bei wenig entwickelter, initialer Tuberkulose des kulturellen Befunds oder eines weiteren Tierversuchs zu bedürfen.

Markl wandte bei seinen Untersuchungen der Wiener Butter das Obermüllersche Verfahren an. Autor untersuchte im ganzen 43 Butter- und 3 Margarineproben in der Weise, daß 8 Butter- und 3 Margarineproben 28 Meerschweinchen gesondert einverleibt wurden, während 35 Butterproben in 6 Gemischen verteilt, bestehend aus 5—8 Einzelproben, 17 Tieren injiziert wurden. Echte Tuberkulose wurde in keinem Falle beobachtet. Nur bei einem Tiere zeigten sich pseudotuberkulöse Veränderungen. Der Sektionsbefund im letzteren Falle lautet: „Das Netz verdickt, mit zahlreichen miliaren grauweißen Knötchen besetzt; außerdem finden sich zwei linsengroße Herde vor, die im Innern käsige erweicht sind. Das parietale Blatt des Peritoneums ebenfalls verdickt, rau, mit zahlreichen miliaren, fest anhaftenden Auflagerungen besetzt. Auf der Milz- und Leberoberfläche einige käsige Auflagerungen. Die Lungen waren frei von pathologischen Veränderungen.“ In den käsigen Massen aus dem Netz fanden sich streptothrixartige relativ säurefeste Fäden, die auf Agarstrich, Gelatine und Kartoffeln einen rosaroten Belag bilden. Die Stäbchen in Reinkultur Meerschweinchen intraperitoneal injiziert, erzeugen eine subakute hämorrhagische Peritonitis.

Herr und Beninde untersuchten 52 Butterproben verschiedener Herkunft. Sie injizierten intraperitoneal 2—3 ccm der bei 37° geschmolzenen und gut durchmengten Butter, außerdem den durch Zentrifugieren gewonnenen und teilweise vom Fett befreiten Rückstand. Einige Tiere gingen an Peritonitis zu Grunde. Abimpfungen aus dem Bauchfellexsudat ergaben Reinkulturen von *Staphylococcus aureus*, der sich bei intraperitonealer Einverleibung für weiße Mäuse als sehr pathogen erwies. Unter den Versuchstieren befanden sich zwei, bei denen typische Impftuberkulose vorlag, bei 20 weiteren Tieren war der makroskopische Befund zweifelhaft. Herr und Beninde schlossen bei der Differentialdiagnose das Verfahren von Petri aus, weil sie die gegenteiligen Angaben Rabinowitschs durch den Mangel der Kulturversuche bei Petri nicht für widerlegt halten. Jedoch halten die Autoren das Verfahren von Rabinowitsch durch histologische Untersuchung, die Entscheidung, ob Tuberkulose oder Pseudotuberkulose vorliege, zu fällen, nicht für richtig. Epitheloidzellnester in den Knötchen, zentrale Verkäsung, sowie „sehr spärlich“ säurefeste Stäbchen an der Verkäsungsgrenze konnten sie auch bei den durch spätere Versuche sicher als pseudotuberkulös befundenen Organen nachweisen. Langhanssche Riesenzellen sind nach ihrer Meinung nicht typisch für echte Impftuberkulose. An die Stelle der seitherigen Methoden zur Differentialdiagnose setzen die Autoren das Verfahren, eine Organübertragung in die vordere Augenkammer von Kaninchen zu machen. Bei Anstellung einer zweiten Versuchsreihe mit 15 Butterproben wandten die Autoren das Obermüllersche Zentrifugierverfahren an, wobei die Wirkung der säurefesten Stäbchen vollständig ausgeschaltet wurde. Herr und Beninde sind der Meinung, daß das „Mitverimpfen ganz geringer Fettmengen den säurefesten Bacillen besonders günstige Bedingungen zur Entwicklung gibt. Unter 45 Butterbezugsquellen lieferten 11,1 Proz. bzw. 15,5 Proz. Tb.-haltige Butter.

Teichert untersuchte 40 Butterproben mit 95 Meerschweinchen unter Anwendung der Obermüllerschen Methode. Teichert fand neben 22,22 Proz. (bzw. 30,55) der Fälle in 5,55 Proz. ein relativ säurefestes Stäbchen, das weder für sich noch in Verbindung mit sterilem

Butterfett für Mäuse und Meerschweinchen pathogen war. Auf Blutserumstrich und Kartoffel wird ein ziegelroter Farbstoff gebildet. Teicherts relativ säurefester Bacillus weist in kultureller und tinktorieller Beziehung Aehnlichkeit mit Toblers Bacillus III auf.

Grassberger untersuchte 10 Butterproben, indem er 20 Meerschweinchen 3—5 ccm der verflüssigten Butter intraperitoneal injizierte. In 10 Fällen beobachtet Autor pseudotuberkulöse Veränderungen. Subkutane Verimpfung der Aftermassen auf Meerschweinchen erzeugten keine pathologischen Veränderungen. Die isolierten Bakterien zeigen große Aehnlichkeit mit den von Hormann und Morgenroth beschriebenen Arten. Grassberger bewies durch seine weiteren Untersuchungen die Abhängigkeit des Krankheitsprozesses von der Injektion fettartiger Fremdkörper. Das charakteristische Krankheitsbild nach Injektion fettartiger Körper mit den Pseudotb. verdankt nach Grassberger folgenden Triebkräften seine Entstehung:

1) „Ueppiges Wachstum der Bacillen in oder an der Oberfläche von sie vor der Phagocytose schützenden Fetttropfen.

2) Sich stets durch das obengenannte Moment steigende Exsudation, Abscheidung von die bacillenhaltenden Tropfen fixierenden und vor weiterer Emulgierung schützenden Pseudomembranen.“

Von Untersuchungen, die abgedeutet von der Aufgabe, Tuberkelbacillen in der Butter nachzuweisen, nur das Studium der „Pseudotuberkelbacillen“ im Auge hatten, seien die von Pettersson und Hölscher hervorgehoben.

Pettersson stellte mit 6 Arten säurefester Bakterien vergleichende Untersuchungen an, mit dem Butterbacillus Rabinowitsch, mit dem Butterbacillus Petri, mit dem Grasbacillus II Möller, mit dem Timotheebacillus Möller, dem Mistbacillus Möller und dem Bacillus der Blindschleichen-tuberkulose. Pettersson gelangt zu folgenden Resultaten: Timothee- und Mistbacillus halten die Farbe energischer fest als der Tuberkelbacillus, die anderen drei zeigen eine geringere Säurefestigkeit. Petris und Rabinowitschs Stäbchen entfärbten sich in Organen, die längere Zeit in Alkohol gehärtet wurden, wodurch sie sich von dem Tuberkelbacillus unterscheiden. „Größe und Gestalt variieren bei derselben Art nach bisher völlig unbekanntem Gesetzen“. Timothee- und Mistbacillus gedeihen am besten bei 45—50° C, die Optimaltemperatur der anderen Bakterien ist 37°, nur der Bacillus der Blindschleichen-tuberkulose wächst am besten bei Zimmertemperatur. Pettersson hält die Stäbchen Petris und Rabinowitschs nicht für identisch. Korns Bacillus stimmt mit den Stäbchen Rabinowitschs morphologisch und kulturell überein. Timotheebacillus zeigt sehr große Aehnlichkeit mit dem Mistbacillus, der Petri-Bacillus ist wahrscheinlich identisch mit Möllers Grasbacillus II. Meerschweinchen und weiße Mäuse verhalten sich intraperitonealer Injektion von Reinkultur gegenüber refraktär. Kulturell lassen sich alle Arten von Tb. leicht unterscheiden. Pettersson glaubt jedoch, daß „die genauere allseitige Untersuchung früher oder später jedenfalls ihre Zusammengehörigkeit noch deutlicher erkennen läßt“. Biologisch interessant findet es Pettersson, daß sich in dieser verwandten Gruppe eine fortlaufende Reihe vom einfachen Saprophytismus bis zum obligaten Parasitismus ergibt.

„Säurefeste Organismen von Möller u. a.: Vorwiegend saprophy-

tisch, nur unter bestimmten Bedingungen zu Parasiten werdend. Mittlere bis gute Säurefestigkeit — Saprophyt bis fakultativer Parasit“.

Actinomyces: Sowohl parasitische als rein saprophytische Formen umfassend; die parasitischen auf unseren Nährböden leicht saprophytisch wachsend. Teilweise säurefest (Bereséneff) — fakultativer Parasit.

Tuberkelbacillus: Bisher nur parasitisch lebend gefunden. Saprophytisches Wachstum jedoch kulturell noch leicht zu erzielen. Säurefest — fakultativer Saprophyt.

Leprabacillus: Nur parasitisch lebend; saprophytisches Wachstum bis jetzt nicht beobachtet. Säurefest — obligater Parasit.

Hölscher untersuchte in eingehender Weise den Butterbacillus Rabinowitsch, den Gras- und Timotheebacillus Möller. Kulturell lassen sich nach Angabe Hölschers diese drei Arten von dem echten Tuberkelbacillus mit seinem obligatem Wärmebedürfnis prinzipiell durch ihr Wachstum bei niederen Temperaturen und die Bildung eines gelben Farbstoffes unterscheiden. Hölscher erwähnt, wie dies von anderen Autoren ebenfalls gefunden wurde, daß in Schnittpräparaten, die in Alkohol gehärtet und in Celloidin eingebettet waren, der Butterbacillus, Gras- und Timotheebacillus teilweise entfärbt werden. Die Resultate betr. die Pathogenität der drei Arten faßt Hölscher folgendermaßen zusammen: „Vollvirulente Kulturen aller drei Arten können, wenn sie in sehr großen Mengen eingeführt werden, eine Affektion hervorrufen, welche von manchen Fällen von Bauchfelltuberkulose, wie sie experimentell mit abgeschwächten Kulturen erzeugt wird, makroskopisch nicht zu unterscheiden ist. Der einzige Unterschied liegt hier, gerade wie bei den Infektionen mit Butter zusammen, nur in der Schnelligkeit des Verlaufes“. Daß Tb. und Pseudotb. bei Butteranwesenheit die gleichen typischen Affektionen hervorrufen können, wie Petri fand, bestätigen die Untersuchungen Hölschers.

Da Hölscher jedoch bei längerer Zeitdauer keine Ausdehnung des Krankheitsprozesses sah und da die Größe der Knötchen bei intravenöser Injektion in direktem Verhältnis zur Menge der injizierten Bakterien stand, so hält Hölscher es für wahrscheinlich, daß die Wirkung der Bakterien mehr dem Verhalten lebloser Fremdkörper entspricht. Einen Beweis für diese Annahme findet Hölscher „durch den in Bezug auf die Verbreitung des Krankheitsprozesses über den Impfort hinaus völlig negativen Ausfall der lokalen Infektionsversuche“.

Zum Schlusse möchte ich auf Untersuchungen hinweisen, die Verf. dieses in den letzten 2 Jahren mit der Stuttgarter Markt- und Handelsbutter angestellt hat¹⁾. Bei den Untersuchungen kam neben der intraperitonealen Injektionsmethode das von Ostertag zum erstenmal für Milch angewandte Verfahren der Injektion in die Muskulatur der inneren und hinteren Flächen der Hinterschenkel zur Anwendung, was sich in jeder Beziehung gut bewährte. Im ganzen wurden 100 Butterproben mit 140 Versuchstieren auf Tb. untersucht, 6 Butterproben kommen in Wegfall, weil die Versuchstiere an Peritonitis eingingen. Die in Betracht kommenden 94 Butterproben entstammen 90 verschiedenen Bezugsquellen und 88 verschiedenen Molkereien. Von den untersuchten Proben konnten in 8 (8,5 Proz.) mittels Tierversuchs Tuberkelbacillen nachgewiesen werden.

1) Cf. die demnächst im Archiv f. Hygiene zur Veröffentlichung gelangende Arbeit.
Zweite Abt. Bd. XVI.

Literatur.

- Abenhausen, Einige Untersuchungen über das Vorkommen von Tuberkelbacillen in der Marburger Butter und Margarine. [Dissertation.] Marburg 1900.
- Ascher, Untersuchungen von Butter und Milch auf Tuberkelbacillen. (Zeitschrift für Hygiene. Bd. XXXII. 1899.)
- Aujeszký, Ueber das Vorkommen der Tuberkelbacillen in der Budapester Marktbutter. (Centralblatt f. Bakteriologie. Bd. XXXI. 1902.)
- Bang, Experimentelle Untersuchungen über tuberkulöse Milch. (Deutsche Zeitschrift für Tiermedizin und vergleichende Pathologie. Bd. XVII. 1891.)
- Barthel und Stenström, Weitere Beiträge zur Frage des Einflusses hoher Temperaturen auf Tuberkelbacillen in der Milch. (Centralblatt f. Bakteriologie. Abt. I. Bd. XXXVII. 1904.)
- Baumgartens Jahresbericht. Jahrg. XVII. 1901.
- Behring, Römer und Ruppel, Tuberkulose. (Ref. Centralbl. f. Bakteriologie. Bd. XXXII. 1903.)
- Bonhoff, Ueber das Vorkommen von Tuberkelbacillen in der Marburger Butter und Margarine. (Hygienische Rundschau. Bd. X. 1900.)
- Brusaferro, Alcune esperienze di inoculazione col burro del commercio. (Giornale di med. veter. prat. Torino 1890. Ref. Baumgartens Jahresbericht. 1890.)
- Cipollina, Angelo, Beitrag zu dem Studium der Rinder- und menschl. Tuberkulose. (Ref. Centralbl. f. Bakteriologie. Bd. XXXIII. 1902.)
- Coggi, Sulla presenza di bacilli tubercolari nel burro di mercato di Milano. (Giornale della reale società italiana d'igiene 1899. No. 7. — Ref. Centralbl. f. Bakteriologie. Bd. XXVII. 1900.)
- Courmont, P. et Descos, A., Lésions tuberculiformes causées par l'inoculation chez le chien par voie sous-cutanée du buille „acido-resistant“ du beurre de Binot. (Ref. Centralbl. für Bakteriologie. Bd. XXXIII. 1903.)
- Dawson, Fifteenth annual report of the Bureau of animal industry 1898. U. S. Dept. of agricult. Washington 1899. (Ref. Hyg. Rundschau. 1900 und Baumgartens Jahresbericht. Jahrg. XV. 1899.)
- Dinwiddie, The intransmissibility of human and bovine tuberculosis. (Ref. Centralbl. für Bakteriologie. Bd. XXXIII. 1903.)
- Düsselhorst, Die Frage der Identität der Menschen- und Tiertuberkulose. Münch-med. Wochenschrift. 1902. — Ref. Centralbl. für Bakteriologie. Bd. XXXII. 1902.)
- Fiebiger und Jensen, Uebertragung der Tuberkulose des Menschen auf das Rind. (Berliner klinische Wochenschrift. 1902. Ref. Centralblatt für Bakteriologie. Bd. XXXII. 1903.)
- Galtier, Dangers de l'utilisation des produits, tels que le petit-lait et le fromage, obtenus avec le lait de vaches tuberculeuses. (Comptes rendus des séances de l'académie des sciences de Paris 1887.)
- Gasperini, Il burro naturale come mezzo die trasmissione della tubercolosi. (Giornale della R. Società d'igiene. 1890. — Ref. Baumgartens Jahresbericht. 1890.)
- Grassberger, Ueber die nach intraperitonealer Injektion von Marktbutter bei Meerschweinchen entstehenden Veränderungen. (Münchener mediz. Wochenschrift. Jahrg. XLVI. 1899.)
- Heim, Ueber das Verhalten der Krankheitserreger der Cholera, des Unterleibstypus und der Tuberkulose in Milch, Butter, Molken und Käse. (Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. V. 1889.)
- Hellström, Ueber Tuberkelbacillennachweis in Butter und einige vergleichende Untersuchungen über pathogene Keime in Butter aus pasteurisiertem und nicht pasteurisiertem Rahm. (Centralbl. für Bakteriologie. Bd. XXVIII. 1900.)
- Herbert, Untersuchungen über das Vorkommen von Tuberkelbacillen in der Marktbutter. (Arbeiten a. d. Gebiete der patholog. Anatomie und Bakteriologie von Baumgarten. Bd. III. 1902.)
- Herr und Beninde, Untersuchungen über das Vorkommen von Tuberkelbacillen in der Butter. (Zeitschrift für Hygiene. Bd. XXXVIII. 1901.)
- Hesse, Ein neues Verfahren zur Züchtung des Tuberkelbacillus. (Zeitschr. für Hygiene. Bd. XXXI. 1899.)
- Hölscher, Experimentelle Untersuchungen mit säurefesten Tuberkelbacillen ähnlichen Spaltpilzen. (Arbeit. a. d. Geb. der patholog. Anatomie und Bakter. von Baumgarten. Bd. III. 1902.)

- Hoffmann, Ueber Fortzucht von Tuberkelbacillen auf Glycerinkartoffeln. (Hyg. Rundschau. Jahrg. XIV.)
- Hormann und Morgenroth, Ueber Bakterienbefunde in der Butter. (Hyg. Rundschau. Jahrg. VIII. 1898.)
- v. Hüllen, Ein Beitrag zur Biologie der Tuberkelbacillen, mit besonderer Berücksichtigung der Hessischen Angaben. (Centralbl. für Bakteriologie. Abt. I. Bd. XXXIII. 1903.)
- Jäger, Ueber die Möglichkeit tuberkulöser Infektion des Lymphsystems durch Milch und Milchprodukte. (Hyg. Rundschau. Bd. IX. 1899.)
- Kitasato, Ueber das Verhalten der einheimischen japanischen Rinder zur Tuberkulose (Perlsucht). (Zeitschr. für Hygiene. Bd. XLVIII. 1904. Heft 3.)
- Klein, Pathogenic microbes in milk. (Centralbl. für Bakteriologie. Abt. I. Bd. XXXIII. 1903.)
- Koch, Uebertragbarkeit der Rindertuberkulose auf den Menschen. (Centralbl. f. Bakteriologie. Bd. XXXIII. 1903.)
- Köhler, Ueber den Stand der Frage von der Uebertragbarkeit der Rindertuberkulose auf den Menschen. (Centralbl. für Bakteriologie. Abt. I. Bd. XXXIII. 1903.)
- Kolle und Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Band II. 1903.
- Korn, Zur Kenntnis der säurefesten Bakterien. (Centralbl. für Bakteriologie. Abt. I. Bd. XXV. 1899.)
- Tuberkelbacillenfunde in der Marktbutter. (Archiv für Hygiene. Bd. XXXVI. 1899.)
- Krause, Ueber einen Fall von Impftuberkulose eines Schlachthausarbeiters durch tuberkulöse Organe eines Rindes. (Münchener med. Wochenschrift. 1902. — Ref. Centralbl. für Bakteriologie. Abt. I. Bd. XXXII. 1903.)
- Kühnau, Ueber Beschaffung einwandfreier Milch durch Sorge für gesunde Viehbestände, unter besonderer Berücksichtigung der Rindertuberkulose. (Sitzung der biolog. Abt. des Hamburger ärztl. Vereins vom 20. März 1900. Ref. Centralbl. für Bakteriologie. Abt. I. Bd. XXXII. 1903.)
- Küster, Milchhygiene. (Deutsche med. Wochenschrift 1901. No. 48. — Ref. Centralbl. für Bakteriologie. Abt. I. Bd. XXXIII. 1903.)
- Lasar, Ueber das Verhalten von Typhusbacillen, Cholerabakterien und Tuberkelbacillen in der Butter. (Zeitschr. für Hygiene. Bd. X. 1891.)
- Lassar, Ueber Impftuberkulose. (Deutsche med. Wochenschrift. 1902. No. 40. — Ref. Centralbl. für Bakteriologie. Abt. I. Bd. XXXII. 1903.)
- Lehmann und Neumann, Atlas und Grundriß der Bakteriologie. 3. Aufl. 1904.
- Löffler, Hygiene der Molkereiprodukte. (Deutsche med. Wochenschrift. 1901. No. 51 und 52. — Ref. Centralbl. für Bakteriologie. Abt. I. Bd. XXXIII. 1903.)
- Lorenz, Chemisch-bakteriologische Untersuchungen der in Jurjew (Dorpat) vorkommenden Kuhbutter. [Diss.] Dorpat 1901.
- Markl, Zur Frage des Vorkommens von Tuberkelbacillen in der Wiener Marktbutter und Margarine. (Wiener klinische Wochenschrift. Jahrg. XIV. 1901.)
- Michelazzi, Sugli effetti tossici della prolungata alimentazione con latte sterilizzato di animale tubercolotico. (Annali d'igiene sperimentale. Vol. XI. 1901. — Ref. Centralbl. für Bakteriologie. Abt. I. Bd. XXXII. 1903.)
- Möller, Zur Frage der Uebertragbarkeit der Menschentuberkulose auf Rinder und Ziegen. (Deutsche med. Wochenschrift. 1902. — Ref. Centralbl. für Bakteriologie. Abt. I. Bd. XXXIII. 1903.)
- Beitrag zum Vorkommen von Pseudotuberkelbacillen bei Rindern. (Berliner tierärztl. Wochenschrift. 1903. — Ref. Centralbl. für Bakteriologie. Abt. I. Bd. XXXIII. 1903.)
- Morgenroth, Ueber das Vorkommen von Tuberkelbacillen in der Margarine. (Hyg. Rundschau. Bd. IX. 1899.)
- Obermüller, Ueber Tuberkelbacillenfunde in der Marktbutter. (Hygienische Rundschau. Jahrg. VII. 1897.)
- Weitere Mitteilungen über Tuberkelbacillenfunde in der Marktbutter. (Hygienische Rundschau. Jahrg. IX. 1899.)
- Ueber neuere Untersuchungen, das Vorkommen echter Tuberkuloseerreger in der Milch und den Molkereiprodukten betreffend. (Hygienische Rundschau. Jahrg. X. 1900.)
- Orth, Was ist Perlsucht? (Berliner klin. Wochenschrift. 1902. — Ref. Centralbl. für Bakteriologie. Abt. I. Bd. XXXII. 1903.)
- Ostertag, Breidert, Käsewurm und Krautstrunk, Untersuchungen über die Eutertuberkulose und die Bedeutung der sogen. säurefesten Pseudotuberkelbacillen für die Feststellung der Eutertuberkulose. (Zeitschr. für Fleisch- und Milchhygiene. Heft 1. Oktober 1904.)
- Pawlowsky, Untersuchungen betreffend die Anwesenheit von Tuberkelbacillen in der Marktmilch und Butter. (Bericht über den 10. internationalen Kongreß für Hygiene und Demographie. (Deutsche Vierteljahrsschrift für öffentliche Gesundheitspflege. Bd. XXXII. 1900.)

- Petri, Zum Nachweis der Tuberkelbacillen in Butter und Milch. (Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte. Abt. I. Bd. XIV. 1898.)
- Pettersson, Untersuchungen über säurefeste Bakterien. (Berliner klin. Wochenschrift. Bd. XXXVI. 1899.)
- Ueber die Lebensbedingungen des Tuberkuloseerregers in der Salzbutter. (Centralblatt für Bakteriologie. Bd. XXXII. 1902.)
- Rabinowitsch, Zur Frage des Vorkommens von Tuberkelbacillen in der Marktbutter. (Zeitschr. für Hygiene. Bd. XXVI. 1897.)
- Weitere Untersuchungen zur Frage des Vorkommens von Tuberkelbacillen in der Marktbutter. (Deutsche med. Wochenschrift. Jahrg. XXV. 1899.)
- Zur Frage der Infektiosität der Milch tuberkulöser Kühe. (Zeitschrift für Tiermedizin. Bd. VIII. 1904.)
- Reitz, Hygienische Studien über das württembergische Molkereiwesen. (Zeitschr. für Fleisch- und Milchhygiene. Jahrg. XV. 1905. No. 6/8.)
- Milchhygiene und Tuberkulosebekämpfung in Dänemark und Schweden, zugleich ein Beitrag zur Technik der Pasteurisierapparate. (Zeitschr. f. Fleisch- und Milchhygiene. Jahrg. XVI. 1906. No. 5.)
- Roth, Ueber die mikroskopische Untersuchung der Butter auf Bakterien, insbesondere auf Tuberkelbacillen. (Korrespondenzbl. für Schweizer Aerzte. 1897. — Ref. Hyg. Rundschau. Bd. VII. 1897.)
- Schanz, Perlsucht und menschl. Tuberkulose. (Wiener klin. Wochenschrift. 1903. — Ref. Centralbl. für Bakteriologie. Abt. I. Bd. XXXIII. 1903.)
- Schlegtendal, Die Bedeutung der Molkereien für die Verbreitung des Unterleibs-typhus. (Vierteljahrsschrift für öffentl. Gesundheitspflege. Bd. XXXII. 1900.)
- Schmidt, Ueber die Vorgänge beim Ranzigwerden und den Einfluß des Rahmpasteurisierens auf die Haltbarkeit der Butter. (Zeitschr. für Hygiene. Bd. XXVIII. 1898.)
- Schuchardt, Einige Untersuchungen über das Vorkommen von Tuberkelbacillen in der Butter. [Dissertation.] Marburg 1896.
- Stenström, Beitrag zur Frage über das Vorkommen von Tuberkelbacillen in der Milch von reagierenden Kühen. (Zeitschr. für Tiermedizin. Bd. VI. 1902. — Ref. Centralbl. für Bakteriologie. Abt. I. Bd. XXXII. 1903.)
- Steriopulo, Der gegenwärtige Stand der Frage über die Beziehungen der Menschen- und Rindertuberkulose zueinander. (Vortrag bei d. Sektion f. Bakteriologie. der kais. Ges. f. Naturkunde in Moskau. Sitzung v. 2. Nov. 1902. — Ref. Centralbl. f. Bakter. Abt. I. Bd. XXXIII. 1903.)
- Sternberg, Ueber die Folgen der Einverleibung toter Tuberkelbacillen. (Centralbl. für Bakteriologie. Abt. I. Bd. XXXII. 1903.)
- v. Szekely, Die Frage der Identität der menschl. und Rindertuberkulose. (Centralbl. für Bakteriologie. Abt. I. Bd. XXXII. 1903.)
- Teichert, Bakteriolog.-chemische Studien über die Butter in der Provinz Posen mit besonderer Berücksichtigung der Tuberkelbacillen. (Klinisches Jahrbuch. Bd. XII. Heft 5.)
- Tjaden, Rinder- und Menschentuberkulose. (Deutsche Vierteljahrsschrift für öffentl. Gesundheitspflege. Bd. XXXIV. 1902. — Ref. Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Bd. XXXII. 1903.)
- Tobler, Beitrag zur Frage des Vorkommens von Tuberkelbacillen und anderen säurefesten Bacillen in der Marktbutter. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXXVI. 1901.)
- Troje, Beitrag zur Frage der Identität der Rinder- und Menschentuberkulose. Einwandfreie Beobachtung von Uebertragung der Rindertuberkulose auf den Menschen durch zufällige Hautimpfung mit nachfolgender Lymphdrüsentuberkulose. (Deutsche med. Wochenschrift. 1903. — Ref. Centralbl. für Bakteriologie. Abt. I. Bd. XXXIII. 1903.)
- Vieth, Die Behandlung der Milch mit Rücksicht auf die Seuchentilgung. (Landwirtsch. Centralbl. Organ der Landwirtschaftskammer für die Provinz Posen. 1902. — Ref. Centralbl. für Bakteriologie. Abt. I. Bd. XXXIII. 1903.)
- Weissenfeld, Ueber Bakterien in der Butter und einigen anderen Milchprodukten. (Berliner klin. Wochenschrift. Bd. XXXVI. 1899.)
- Wilhelmi, Zur Tuberkulosefrage. (Schweizer Archiv f. Tierheilkunde. 1903. Heft 6. — Ref. Centralbl. für Bakteriologie. Abt. I. Bd. XXXV. 1904.)
- Wolff, Perlsucht und menschl. Tuberkulose. (Deutsche med. Wochenschr. 1902. — Ref. Centralbl. für Bakteriologie. Abt. I. Bd. XXXIII. 1903.)

Originalreferate über Kongresse.

Résolution du 2^e Congrès international de Laiterie, Paris 16 à 19 octobre 1905.

Der Kongreß gibt zu und erklärt ausdrücklich, daß jedes weibliche milchende Tier, welches mit einer infektiösen Krankheit behaftet ist, eine für die Gesundheit der Konsumenten schädliche Milch liefern kann, und stellt infolgedessen folgende Postulate auf:

1) Sämtliche Milchkühe, deren Milch genossen werden soll, müssen mit einem von tierärztlicher Seite ausgestellten Gesundheitsschein versehen sein, und sämtliche Molkereien müssen von den Sanitätsbehörden häufigen Revisionen unterzogen werden.

2) Kein weibliches milchendes Tier darf, selbst wenn es absolut keine wahrnehmbaren klinischen Symptome aufweist und lediglich auf die Tuberkulininjektion deutlich reagiert, zu Zwecken der Milchindustrie verwendet werden. Jedenfalls darf die von einem solchen Tiere herrührende Milch nur in abgekochtem Zustande genossen werden, wobei man die Abkochung bei einer genügend hohen Temperatur vornehmen und genügend lange andauern lassen muß, um die in der Milch eventuell enthaltenen Tuberkelbacillen unschädlich zu machen.

3) In rohem, d. h. nicht abgekochtem Zustande darf die Milch nur dann genossen werden, wenn sie von Kühen herrührt, die auf die Tuberkulininjektion nicht reagiert haben, vorausgesetzt, daß die Tuberkulinprobe unter Kontrolle sachverständiger Personen vorgenommen wird.

4) Sämtliche Molkereiprodukte, die von tuberkulösen Kühen herrühren, müssen sterilisiert werden, bevor sie für den Handel freigegeben werden.

Lydia Rabinowitsch (Berlin).

Referate.

Lafar, Handbuch der technischen Mykologie. 2. verm. Aufl.
Jena (G. Fischer) 1905. 2. Fortsetzung.

Des III. Bandes III. Abschnitt bringt die Zersetzung der Baustoffe der Pflanzenzellenwände und im 9. Kapitel bespricht Dr. Omelianski-Petersburg die Cellulosegärung; nachdem er zunächst den Begriff Cellulose vom chemischen und physiologischen Standpunkte aus beleuchtet hat, geht er auf die geschichtliche Entwicklung der Lehre von der Cellulosegärung über. Die erste Beobachtung über die natürliche Zersetzung der Cellulose verdanken wir Mitscherlich (1850), welcher bei der Naßfäule der Kartoffeln im Wasser die Zerstörung der Zellhüllen und das Absetzen des Stärkemehles am Boden des Gefäßes sah. Pasteurs Arbeiten waren auch auf dem Gebiete der Cellulosegärung fruchtbringend und seine Ideen wurden u. a. 1865 von Trécul verwertet, welcher dann auch eine Beschreibung der hierbei tätigen Spaltpilzformen brachte; da diese Organismen gemeinsam durch Jod gebläut werden, so benannte er sie *Amylobacter*. Dann folgten 1877—1879 van Tieghems Arbeiten und interessiert uns am meisten, daß erwähnten Bacillen die hervorragende Eigenschaft zugesprochen wurde, die Cellulose unter Bildung von Buttersäure, Kohlensäure und Wasserstoff zu zersetzen. Da aber damals „Reinzuchten“ noch nicht bekannt waren, so hat auch van Tieghem mit einer sogen. Sammelspecies gearbeitet. Zu Anfang

der 80er Jahre erschienen eine Reihe von Arbeiten Tappeiners über Cellulosezersetzung innerhalb des Verdauungskanal der Pflanzenfresser, welche zeigten, daß je nach den Versuchsbedingungen sich bald die Wasserstoff-, bald die Methangärung entwickelte, bisweilen auch beide gleichzeitig nebeneinander verliefen; die eingehendsten Versuche aber veröffentlichte 1886 Hoppe-Seyler. Er folgert (p. 249) aus seinen Versuchen bezüglich des wahrscheinlichen Mechanismus des Celluloseverfalles bei der Methangärung zwei Phasen, indem zunächst Hydratation derselben und Bildung einer Hexose eintrete, dann aber Zersetzung dieses Kohlenhydrats in gleiche Teile Methan und CO_2 , vielleicht unter vorheriger Bildung gewisser Zwischenprodukte.

Aus weiteren Angaben ist zu ersehen, daß sich mit der Cellulosegärung unter Einwirkung von Mikroorganismen zwar viele Forscher beschäftigt haben, der Erfolg aber ein geringer war, da die ersten Arbeiten auf diesem Gebiete in eine Zeit fallen, in welcher die bakteriologische Technik noch sehr unentwickelt und von einer „Reinzucht“ noch keine Rede war, die späteren und größeren Arbeiten aber von Nicht-Bakteriologen ausgeführt wurden und daher der bakteriologische Teil unberücksichtigt blieb. Erst Omelianski begann 1895 bei seinen Arbeiten über Wasserstoffgärung der Cellulose sowohl der Chemie als der Bakteriologie des Prozesses in gleicher Weise gerecht zu werden, wie er auch frühere Arbeiten in dieser Beziehung nachprüfte. Als Ausgangsmaterial für die Impfungen diente in seinen Versuchen Pferdemist und Newaflußschlamm; letzterer wurde in einem geräumigen Glasballon bei Zimmertemperatur aufbewahrt und entwickelte ununterbrochen reichliche Mengen eines brennbaren Gasgemisches, welches aus Methan, CO_2 und H bestand. Die Aussaaten wurden mit reinem Filtrierpapier und Kreide beschickt, die Flaschen bis zum Stopfen mit einer Nährlösung von phosphors. Kali 1 g, schwefels. Magnesia 0,5 g, schwefel- oder phosphorsaurem Ammon 1 g, Kochsalz eine Spur und destill. Wasser bis zu 1 Liter aufgefüllt. Der Zusatz von Kreide ist jedesmal erforderlich, da ohne solche entweder Gärung überhaupt nicht eintritt oder bald erlischt. Außerdem gelangten wechselnde Zusätze von Asparagin, Pepton und Fleischextrakt zur Anwendung und statt gewöhnlichem Filtrierpapier wurde Pergamentpapier, chemisch gefüllte Cellulose u. s. w. genommen; Versuchsoptimum $+ 34-35^\circ \text{C}$.

Die der Gärung der Cellulose vorausgehende Inkubationszeit ist im allgemeinen eine sehr lange und in weiten Grenzen schwankende. Die Einzelheiten wollen auf p. 253 u. ff. nachgesehen werden, doch sei hervorgehoben, daß die beschriebenen Versuchsanstellungen nach Omelianski sowohl zur Erregung der Methan- als auch der Wasserstoffgärung tauglich sind und daß die Erhitzung der Aussaat bestimmend wirkt. Nimmt man die Abimpfungen ohne vorhergegangenes Erwärmen vor, so setzt sich in der Regel in den folgenden Zuchten die Methangärung fest, wird aber bei den ersten Abimpfungen die Zucht vorher 15 Minuten lang auf 75° erhitzt, dann sind die Bedingungen für die Entwicklung der H-Gärung geschaffen.

Ferner ergab sich, daß die Inkubationszeit der Methangärung kürzer ist, als die der H-Gärung. — Dann folgen die morphologischen Beschreibungen der Erreger ebengenannter Gärungen, welche durch vorzügliche Abbildungen auf Tafel VII (Sporenbildung beachten) unterstützt werden.

In § 74 wird besonders die Methangärung der Cellulose besprochen und sei hervorgehoben, daß die Zucht bei $35-37^\circ$ unter anaëroben

Bedingungen gehalten wird; auch jetzt wird auf die große Aehnlichkeit beider Gärungserreger aufmerksam gemacht, sowie daß beide auf festen Nährböden nicht zu züchten sind. Den Schluß bildet die quantitativ-analytische Erforschung der Methangärung der Cellulose und dann folgt in § 75 deren Zersetzung durch denitrifizierende und aërobe Bakterien, sowie durch Schimmelpilze. So beobachtete schon Meusel 1875, daß bei Anwesenheit von Cellulose denitrifizierende Bakterien Nitrate zu Nitriten reduzieren, welches kürzlich durch van Iterson bestätigt wurde, wie gleichfalls Cellulose bei völligem Luftzutritt durch allgemein verbreitete nicht sporenbildende, aërobe Bakterien zersetzt wird, zu welchem Versuche ebenfalls van Iterson den *Bacill. ferrugin.* benutzte. Daß Schimmelpilze zersetzen, wurde zuerst 1886 durch de Bary und dann von Kissling, Behrens u. a. bestätigt.

Zum Schlusse wird dann noch das Schicksal der Cellulose des Futters im Verdauungskanal der Pflanzenfresser angegeben.

In dem nun folgenden 10. Kapitel wird die Pektin-gärung von Prof. Dr. Behrens besprochen und in der Einleitung zunächst die Chemie und die Verbreitung der Pektinstoffe definiert. Nachdem die Zugehörigkeit der Pektinkörper zu den Kohlenhydraten durch die Analyse und die Spaltungsprodukte bewiesen ist, trennt sie zunächst nichts von den sogen. Pflanzenschleimen und Gummiarten, welche teils gelöst, als Zellinhaltsbestandteile, teils in unlöslichem Zustande als Membranbestandteile, weit verbreitet sind. Die in den Pektinkörpern enthaltenen spezifisch lösenden Enzyme haben Bourquelot und Hérissé unter den Namen Pektinasen zusammengefaßt.

Uebergehend auf die Gewinnung der Gespinnstfaser im allgemeinen, ergibt sich, daß die Isolierung der Faser bei den meisten technisch benutzten Pflanzen wie Flachs, Hanf, Jute u. s. w. durch einen Gärungsvorgang, die Rotte, erreicht wird; im weiteren werden die Unterschiede zwischen Wasser-, Land-, Tau- resp. Winterrotte klargestellt und die hierbei mitwirkenden Mikroorganismen beschrieben. Wie zu erwarten, zeigt sich hieraus, daß bei den verschiedenen Rottenarten auch ganz verschiedene Organismen tätig sind, da ja längst feststeht, daß eine große Anzahl derselben das Vermögen besitzt, die Intercellularsubstanz (paktinsauren Kalk) aufzulösen.

Daß die Ansichten der auf diesem Gebiete tätigen Forscher weit auseinander gehen, darf nicht wunder nehmen; so gibt Hauman an, daß z. B. bei der Flachsrotte alle gewöhnlichen Bakterien und Pilze der Luft und des Bodens im stande seien, an der Rotte teilzunehmen, während andere Forscher, wie Behrens und Beijerinck, diese Arbeitsleistung nur ganz bestimmten Arten zuweisen. Wie aus den mitgeteilten Einzelheiten ersichtlich, bietet die biologische Seite der Rotte noch eine Reihe dankbarer Fragestellungen, um so mehr als nicht einmal bezüglich unserer einheimischen Faserpflanzen Uebereinstimmung besteht und die wichtigen exotischen fast noch gar nicht bearbeitet sind.

Den Schluß bilden Betrachtungen über die Verwendung von Reinzuchten der Rotteerreger, eintretende Störungen und sonstige Pektin-gärungen. — Schon bald nach den ersten Untersuchungen über Wasserrotte des Flachses sucht man diesen Vorgang durch Zusatz des Rotteerregers zu fördern, und Pfuhl berichtet über ein in Amerika patentiertes Verfahren, welches den Rotteprozeß beschleunigen soll. Nach diesem werden Zusätze von Kali, Kalk, Magnesia, Eisensalzen, ferner von Verbindungen, welche N, P und SiO₂ enthalten, gemacht, um be-

obachteten günstigen natürlichen Verhältnissen nachzukommen, welche alle der Entwicklung und Vermehrung des Rotteerregers, *Amylobacter*, zusagen. Friber aber gebührt das Verdienst, wirkliche Reinzuchten eingeführt zu haben; leider sind seine Erfahrungen nicht veröffentlicht, doch sollen dieselben durchaus günstig gewesen sein. Dasselbe läßt sich aber von der Einführung des *Plectridium pectinovorum* in die Praxis der Wasserrotte nicht sagen; wenn auch eine Abkürzung der Zeitdauer erfolgte, so litt unter diesem Einflusse die Qualität zu sehr, so daß dieses Verfahren weiterer Studien bedarf. Auch bezüglich des von Störmer vorgeschlagenen Kalkzusatzes fehlt die Zustimmung der Praktiker, welche weiches Wasser vorziehen. Beijerinck und van Delden suchen dadurch zu helfen, daß sie die Lebensverhältnisse für eine Anhäufung von *Granulobacter pectinovorum* möglichst günstig gestalten. Jedenfalls muß vermieden werden, daß bei zu langer Dauer der Wasserrotte auch die Bakterien der Cellulosegärung sich entwickeln und die Fasern dann teilweise zerstören.

Das 11. Kapitel enthält die „Holz zerstörenden Pilze und die Haltbarmachung des Holzes“ von Prof. Dr. Freiherrn von Tubeuf-München.

Aus dem einleitenden Paragraphen ist zu ersehen, daß nach Zeisel eine völlige Klarheit über den chemischen Aufbau der verholzten Membran noch nicht erreicht und die Art der Enzymwirkung der höheren holzzeretzenden Pilze auf die verholzte Membran noch ungenügend bekannt ist. Hervorgehoben sei, daß als Nährstoffe für die holzbewohnenden Pilze wesentlich die im Pflanzenleitungswasser gelösten anorganischen und organischen Stoffe, besonders Zucker, in Betracht kommen, ferner der Inhalt der Parenchymzellen an stickstoffreichem Plasma, Stärke, Zucker, Oel u. s. w.; demnach sind im Holze genügende Nährstoffmengen für die zersetzenden Pilze vorhanden.

Die neuesten Untersuchungen führten zur Annahme verschiedenartiger Enzyme der Holzzerstörer und isolierte Czapeck u. a. aus dem Mycel des Hausschwammes die *Hadromase*. Ferner scheint nach den von Marzell bestätigten Untersuchungen Hartigs sicher zu sein, daß die spezifische Enzymwirkung der einzelnen Pilzarten auf das Holz der verschiedenen vom gleichen Pilze bewohnten Holzarten die gleiche sei. Zahlreiche Abbildungen im Text und die ganz vorzüglichen Tafeln VIII und IX (Hausschwamm betr.) dienen zur eingehenden Erläuterung; u. a. sei auf Fig. 45 aufmerksam gemacht, in welcher Hartig die einzelnen Stufen der Membranauflösung des Kiefernholzes durch das Enzym von *Trametes Pini* bildlich darstellt.

Bei der Zerstörung der lebenden Bäume sind die echten Parasiten, welche in die unverletzten Pflanzenteile eindringen können, dann die Wundparasiten, welche in unverletztem Holze dies nicht ausführen können und endlich Saprophyten beteiligt, letztere spielen eine weniger schädliche Rolle, da die von ihnen zerstörten Holzteile bereits aus anderen Ursachen abgestorben sind.

Das nach Molisch schon im Altertum bekannte Leuchten des faulen Holzes wurde erst von Retzius und Humboldt auf Pilze zurückgeführt; es wird am meisten an stark zersetzten, absterbenden oder abgestorbenen Stämmen beobachtet. Das Licht der verschiedenen Organismen hat Ludwig spektroskopisch untersucht und dabei bestimmte Merkmale für die einzelnen Arten festgestellt. Brefeld hat zuerst Reinkulturen des leuchtenden *Agaricus melleus* gezüchtet

und dabei auch die Rhizomorphen dieses Pilzes gezogen, welche in der Kultur leuchteten; Molisch fand, daß nur junge Rhizomorphen leuchten und erzielte monatelang leuchtende Rhizomorphen. Ludwig aber ist eine Zusammenstellung der phosphoreszierenden Pilze zu verdanken.

Bei den verschiedenen Infektionen, welche schädigend auf gefälltes Holz einwirken, ist, neben Trockenfäule und Rotstreifigkeit, auch das Blauwerden des Kiefernholzsplintes hervorzuheben, welches nach Winter durch *Ceratostomella pilifera* bewirkt wird, welche Erscheinung neuestens auch Schrenk beschreibt.

§ 84 bringt die Zersetzung des verarbeiteten Holzes durch den echten Hausschwamm, *Merul. lacrymans*, syn. *destruans* Pers. und *vastator* Tode. Im Walde ist dieser schädliche Eindringling nur selten und dann immer als Saprophyt an toten Holz- und Borkenteilen beobachtet worden, während er leider in den europäischen Städten ungemein verbreitet ist und stets immer neu eingeschleppt wird. Seine Entwicklung wird durch Nichttrocknenwerden des Holzes gefördert, somit ist Trockenhaltung alles Holzwerkes tunlichst herbeizuführen und wo dieses unmöglich, müssen Eisen, Stein, Asphalt, Beton u. s. w. an seine Stelle treten. Unter keinen Umständen soll man Material aus mit Hausschwamm behaftet gewesenen Bauten wieder verwenden, da durch Verschleppung mycelhaltiger Holzteile die Sporen weiter verbreitet werden. Morphologisch unterscheidet sich das Mycel dieses Schädlings von anderen Holzzeretzern, daß es nicht nur sogenannte Schnallenzellen bildet, sondern daß diese Schnallen auch meist auswachsen (Fig. 62). — Die Zersetzung des Holzes beginnt damit, daß die Keimhyphen des Hausschwammes sich gegen die Zellmembran des Holzes, auf dem die Sporen keimten, wenden, die Wandungen durchbohren und damit die Zerstörung einleiten. Am Ende des § 84 werden noch Mittel gegen den Hausschwamm besprochen und empfohlen.

Es folgen dann in den nächsten Paragraphen noch Angaben über die Zerstörung des verarbeiteten Holzes durch *Polyporus vaporarius*, ferner andere Holzzerstörer, dann die Trockenfäule und Rotstreifigkeit und die Zerstörung des im Freien verwendeten rohen oder bearbeiteten Holzes. Daß in diesem Kapitel die ganz hervorragenden Arbeiten Hartigs eine entsprechende Anerkennung fanden, ist nur natürlich. Den Schluß bildet die Konservierung des Holzes, insbesondere die Imprägnierung der Schwellen und Telegraphenstangen.

Rullmann (München).

Lafar, Handbuch der technischen Mykologie. 2. verm. Aufl. Jena (G. Fischer) 1905. 3. Fortsetzung.

Aus taktischen Gründen begannen die vorliegenden Referate mit den drei Lieferungen des III. Bandes, um jetzt auf diejenigen des I. Bandes überzugehen. — Eine äußerst gediegene Einleitung aus der Feder des Herausgebers des Gesamtwerkes, Prof. Dr. Lafar-Wien, bringt zunächst die Ansichten über das Wesen der Gärung bis zu Stahl's Zeit, um dann auf die Entdeckung der Gärungsorganismen durch Leeuwenhoek überzugehen, welchem ja bekanntermaßen die Darstellung der ersten optischen Glaslinsen und damit erfolgter erster Beobachtung von Bakterien (Fig. 1, p. 5) zu verdanken ist. Es folgen dann die Lehren von der Urzeugung und deren Widerlegung durch Pasteur. § 4 teilt die Begründung der vitalistischen Auffassung der Gärungserscheinungen durch Cagniard-Latour, Schwann und Kützing mit

und diesem schließt sich die Festigung dieser Auffassung der Gärungsvorgänge durch Pasteur an. Aus dieser Betrachtung sei angeführt, daß der unsterbliche Liebig noch die Gärung als eine rein chemische Zersetzung erklärte und nicht gelten lassen wollte, daß sie durch die Tätigkeit organisierter Wesen zu stande komme. Hochinteressant sind die hier niedergelegten Anschauungen damaliger Zeit, die mit der Erkenntnis, daß die Gärungserscheinungen als Wirkungen von Enzymen der Gärungsorganismen aufzufassen seien, ihren Abschluß fand und man sich gleichzeitig dahin einigte, die bei der Gärung tätigen organisierten Wesen als geformte Fermente, dagegen die ungeformten, nicht organisierten Zersetzungserreger als Enzyme nach Kühnes Vorschlag zu bezeichnen.

Die erste Aufstellung zur Enzymtheorie wurde 1858 durch M. Traube gegeben (p. 21—22).

Es folgt dann die Umgrenzung des Begriffes Gärung nach dem heutigen Sprachgebrauche und die Stellung der Gärungsorganismen im naturhistorischen Systeme.

Der I. Abschnitt: Allgemeine Morphologie, Entwicklungsgeschichte, Anatomie und Systematik der Schizomyceten ist von Professor Dr. Migula-Karlsruhe bearbeitet und in den §§ 8—12 des 1. Kapitels sind die eingehendsten Angaben über Wuchsgestalten, Größe, Gestaltsänderungen, Involutionsformen und die Lehre vom Pleomorphismus der Bakterien niedergelegt, welchen dann im 2. Kapitel die Paragraphen über die Zellmembran, Bildung von Zoogloën, Kapseln und Scheiden, Zellinhalt und dessen körnige Bestandteile folgen. Aus dem nächsten Kapitel ist ersichtlich, daß Leeuwenhoek als erster die Eigenbewegung der Bakterien beobachtete, wenn auch die damaligen Mikroskope die Bewegungsorgane zu erkennen, auch schon mangels der Kenntnisse der Färbbarkeit, nicht zuließen. Hier sind denn auch die Angaben über Auffindung der Geißeln, deren Beziehungen zur Eigenbewegung, Art und Weise derselben, Gestalt, Bau und Anhaftung der Geißeln, ferner die Bedeutung äußerer Einflüsse auf die Beweglichkeit der Bakterien, Chemotaxis, Bildung und Verlust der Geißeln, sowie die Brauchbarkeit der Unterschiede in der Begeißelung als Merkmale für die Systematik niedergelegt. Da naturgemäß hierbei die neuesten Forschungen beachtet sind, so sei gerade auf diese einführenden Kapitel verwiesen, denen sich gleichwertig und gleichwichtig die folgenden „über die vegetative Vermehrung der Bakterien, Dauerformen, Konidien, Arthrosporen und Chlamydosporen,“ und schließlich Kapitel 6: „Einteilung und Stellung der Bakterien im System“ anschließen. Hier werden zuerst die verwandtschaftlichen Beziehungen der Bakterien unter sich und zu anderen Organismen geschildert, dann die verschiedenen älteren bis zu den neuesten Systemen angegeben und mit der Bedeutung der Gattungsbezeichnungen *Bacillus* und *Bacterium* bei den einzelnen der I. Abschnitt beendet.

Den nächsten Abschnitt über die allgemeine Morphologie, Entwicklungsgeschichte, Anatomie und Systematik der Eumyceten hat Prof. Dr. Lindau-Berlin übernommen. Die ersten Paragraphen behandeln die äußere Gestalt der Fadenpilze (Eumyceten) im Gegensatz zu den Spaltpilzen (Schizomyceten), gehen dann auf die Membran über, wobei Zweck und Bedeutung der Poren oder Tüpfel und der feinen Kanäle, welche den Uebertritt von Plasmasträngen aus einer Zelle zur anderen ermöglichen, gelehrt werden, wenn auch diese Plasmabrücken bis

jetzt nur in wenigen Fällen (A. Meyer) nachgewiesen sind, so glaubt man doch an deren häufiges Vorkommen im Pilzreiche. Dann folgen die Abhandlungen über Plasma und seine Einschlüsse, und die Kerne und Kernteilungen werden an der Hand sehr zahlreicher Abbildungen differenziert, auf welche p. 161—165 ganz besonders aufmerksam gemacht sei.

Das 8. und 9. Kapitel berichtet über die Morphologie der Zellverbände der Eumyceten und bringt in seinen Angaben über das typische und Sproßmycel, die Gewebeverbände und bezüglich der Fruktifikationsorgane, über Zygosporienfruktifikation, endogene und exogene Sporenbildung, Oidien, Chlamydosporen, Keimung und Lebensfähigkeit der Eumycetensporen so reiches Material (p. 166—220), daß Interessenten deren Studium empfohlen sei. Einige neueren Angaben über Resistenz der Sporen gegen Austrocknung dürften hervorzuheben sein; so führt Hansen aus, das die Ascosporen von *Anixiopsis stercoraria* sich noch nach einer über 21 Jahre ausdehnenden Aufbewahrung im trockenen Zustande als keimfähig erwiesen, und Eidam und Brefeld teilen mit, das die Konidien von *Aspergillus glaucus* nach 16-jähriger Ruhezeit und die von *Aspergill. flavescens* nach 8-jähriger noch lebenskräftig waren; von *Mucor locusticida* wird nur eine 4—5-monatige Ausdauer angegeben. Bezüglich Hitzeeinwirkung hat sich das gleiche Verhalten wie bei den Schizomyceten ergeben; so hält *Penicill. glaucum* in Flüssigkeit nur 100° C aus, bei Ausschluß von Feuchtigkeit dagegen 120° C und gleiches Verhalten wie bei den Schizomyceten wurde auch bei Widerstand gegen niedrige Temperatur konstatiert. Auch der Schluß dieses Abschnittes, die Systematik der Eumyceten, sei den Lesern des Centralbl. f. B. zum Einzelstudium empfohlen.

Ein reicheres Material für Referate bringt der III. Abschnitt: „Die chemischen Bestandteile der Schizo- und Eumyceten“ von Prof. Dr. Fischer-Bonn.

Wie in den Körpern aller Organismen, so steht auch bei diesen der Gehalt an Wasser an erster Stelle, doch enthalten die Bakterien nicht unter 30 Proz., während die Schimmelpilze sich meist mit 15 Proz. ihrer Gesamtsubstanz begnügen, Hefen dagegen etwa 17 Proz. enthalten. In großem Gegensatz zu den wasserbedürftigen, vegetativen Körpern steht die Wasserarmut der Dauerzustände, der Sporen und Sklerotien, welchen der geringe Wassergehalt noch bis auf Spuren ohne Schädigung der Lebensfähigkeit entzogen werden kann, so daß das stets vorhandene fette Oel die physiologische Rolle des Wassers zu vertreten scheint. Bezüglich der Elementarbestandteile sind sehr interessante Untersuchungen mitgeteilt und stehen natürlich C, H, O und N in erster Reihe. Der Aschengehalt bewegt sich nach den Untersuchungen Cramers u. a. in großen Schwankungen (p. 224). Von den übrigen Grundstoffen gehören S und P als Eiweißbestandteile zu den wichtigsten; die Angaben über Schwefelgehalt aber dürften nicht alle zuverlässig sein, da der sehr hohe Phosphorsäuregehalt der meisten Pilze — und Bakterien — schon beim Glühen Verluste an S veranlaßt, welcher als freie Säure entweicht. Positive Angaben über S-Gehalt bringen Schweinitz und Dorset. Der P-Gehalt der Pilze ist durchschnittlich höher, da er sich zum größten Teile in organischen Verbindungen, den Nukleinen etc. findet; so beträgt die P_2O_5 oft mehr als die Hälfte der gesamten Asche, welche infolgedessen saure Reaktion zeigt. Nach Kappes beträgt beispiels-

weise der P_2O_5 -Gehalt der Asche von *B. prodigosus* und *B. xerosis* 38,01 bez. 34,45 Proz. Das Cl, dem die Funktion zugeschrieben ist, die Nahrungssäfte löslicher und hierdurch leichter verwendbar zu machen, dürfte unter natürlichen Verhältnissen keinem Pilz fehlen; so weisen die meisten Analysen bei Schizo- und Eumyceten Cl auf und Romaggialli fand z. B. bei Essigbakterien 2,29 Proz. Cl in der Asche. Kalium aber nimmt vermutlich sowohl quantitativ als physiologisch die erste Stelle ein, doch schwanken die ermittelten Zahlen in weiten Grenzen. Der Na-Gehalt ist zu unwesentlich und fehlen nähere Angaben, während das für die Mehrzahl unentbehrliche Ca an Menge ziemlich zurücksteht, so enthalten aber immerhin Tuberkelbacillen nach Schweinitz und Dorset 12,64 Proz. Höhere Pilze aber scheinen kalkarm zu sein. Für Mg gelten meist geringere Werte wie für Ca. Daß Fe und Mn hochinteressante physiologische Leistungen im Leben dieser Organismen zu erfüllen haben, ist im 7. Kapitel des III. Bandes ausgeführt. — Gelegentlich kommt auch J vor und ermittelte Gautier in Tetanusbacillen äußerst geringe Mengen, dagegen 0,002—0,033 auf 100 g Frischgewicht in verschiedenen Speisepilzen. Auch Si und Al finden sich ziemlich häufig und gelegentlich Li und Cu. Zum Schlusse werden noch die stickstofffreien und stickstoffhaltigen Membranstoffe eingehend erörtert und sei noch auf das Vorkommen des Chitins bei den Pilzen hingewiesen (p. 237—239).

Das 12. Kapitel bringt über die heutigen Kenntnisse der Chemie des Zellinhaltes ein ungemein reiches Material (p. 241—302) und die darauf bezüglichen Literaturangaben geben ein Bild der auf dieses Gebiet von den zahlreichen Forschern verwendeten Arbeit. Für die vorliegenden Zwecke kann daher nur flüchtig auf Einzelheiten hingewiesen werden, den Interessenten das eingehendere Studium überlassend, da gerade für den technischen Mykologen hier eine reiche Fundgrube geschaffen wurde. Die ersten Paragraphen berichten über die Eiweißstoffe im allgemeinen, führen ältere und neuere Angaben über Eiweißgehalt der Pilze und Bakterien an, bringen Bakterienanalysen und Bemerkungen über den Nährwert der höheren Pilze und gehen dann zu den Nukleinverbindungen über, wobei von den pathogenen Bakterien die Tuberkel-, Rotz-, Diphtherie-, Typhusbacillen u. a. in hervorragender Weise studiert worden sind. — Am genauesten dürften wohl die Hefen auf ihre Inhaltsstoffe untersucht worden sein. Nachdem ein bis dahin unbekannter, stickstoff- und phosphorhaltiger Körper von Miescher in Eiterzellen entdeckt und Nukleïn genannt worden war, fand Hoppe-Seyler 1879 eine ganz ähnliche Substanz in der Bierhefe, und Kossel stellte zuerst aus der Preßhefe größere Mengen reinen Nukleïns dar. Aehnliche Stoffe sind dann vielfach aus tierischen und pflanzlichen Substanzen dargestellt und mit dem Sammelnamen Nukleïne bezeichnet worden. Wie den vorher aus pathogenen Bakterien gewonnenen Nukleïnverbindungen meist die toxische Eigenschaft der verschiedenen Krankheitserreger zuzuschreiben ist, so hat andererseits Lasché an Hefennukleïnen keimtötende Wirkung beobachtet, und bekanntermaßen wurden in letzter Zeit diesbezügliche Versuche zu Heilzwecken, so auch Furunkulose, ange stellt; Näheres im 5. Kapitel des V. Bandes.

Dann folgen die „Eiweißkörper im engeren Sinne“; das bis jetzt über deren Vorkommen in den Pilzen Bekannte beschränkte sich fast ganz auf einige Substanzen giftiger Natur, die aus pathogenen Spaltspitzen gewonnen und meist als Toxalbumine bezeichnet wurden.

§ 64 enthält „Allgemeines über Enzyme, Einteilung und Benennung, Wirkungsweise und Wirkungsgesetze.“ — Zunächst sind die Enzyme als eigenartige, den Eiweißkörpern ähnliche Substanzen zu bezeichnen, die getrennt von den lebenden Zellen in wässriger Lösung noch die gleiche oder annähernd gleiche Wirkung entfalten, welche ihnen physiologisch zukommt; gemeinsam ist aber allen Enzymen, daß sie je eine bestimmte, ihnen besonders eigene, chemische Umsetzung hervorrufen. Es ist jedoch nicht leicht, die in ihrem chemisch-physikalischen Verhalten ähnlichen Enzyme voneinander zu trennen. Die ersten bekannt gewordenen Enzyme waren spaltende, abbauende, also solche, die einen Körper höherer Zusammensetzung in seine Komponenten zerlegten; so gehören hierher die am längsten bekannten — Diastase, Pepsin und Emulsin — welche drei verschiedene Typen der Spaltung vorstellen, die der Polysaccharide, des Eiweißes und der Glyceride. Eine wesentliche Erweiterung und Vertiefung der Kenntnisse fand erst seit dem letzten Drittel des vorigen Jahrhunderts statt, so daß jetzt die Zahl der beschriebenen und genauer studierten eine sehr große ist und zu der Einteilung in vier Klassen führte, die als abbauende, oxydierende, reduzierende und gärende Enzyme oder Zymasen bezeichnet werden (p. 254—260).

Anschließend folgt die biologische Bedeutsamkeit der Enzyme, ihre Verbreitung im Pilzreiche und ihre chemische Natur. Die Frage nach ihrer Herkunft ist im allgemeinen dahin zu beantworten, daß sie aus dem Eiweiß der Zelle, wohl durch Abspaltung, hervorgehen und bezeichnet man die hypothetische Muttersubstanz als Zymogene oder Proenzyme.

Ebenso vielseitig wie die Wirkungsweise ist auch die Verbreitung der Enzyme in der belebten Natur und dürfte ein lebendes Wesen ohne Enzyme ernstlich nicht vorstellbar sein, da alle in der Zelle stattfindenden chemischen Vorgänge, selbst Synthesen, durch Enzyme bewirkt werden. In diesem Handbuche wird noch in vielen Kapiteln eingehend hierüber gelehrt werden, es sei daher an dieser Stelle nur kurz über allgemeine chemisch-physikalische Eigenschaften berichtet.

So ist der chemische Charakter noch wenig präzisiert; wenn ja auch die Enzyme wahrscheinlich mit Recht als Eiweißkörper angesprochen werden, so ist doch der exakte Beweis hierfür schwer zu erbringen. Die Tatsache aber, daß Enzyme durch Erhitzen früher oder später (meist zwischen 50—80°) unwirksam werden, spricht nur für ihre Kolloid- und Katalysatornatur. Ueber diese Fragen stehen abschließende Untersuchungen noch aus.

Die „Giftstoffe“ ebenso „Fäulnisalkaloide oder Ptomaine“ werden in den betreffenden Kapiteln, so im 4. Kapitel des III. Bandes, eingehend erörtert.

Sehr interessante Angaben sind dem § 68 „Fette, höhere Alkohole und verwandte Körper und organische Säuren“ zu entnehmen. Durch verschiedene Untersuchungen ist bewiesen, daß in Bakterien und Pilzen als Reservestoff, wohl auch als Sekrete, Fett, freie Fettsäuren und Cholesterine verbreitet sind und daß je nach den Lebensbedingungen diese Körper in schwankendem Verhältnisse gebildet werden, wies Cramer am Pneumoniebacillus nach, welcher auf Peptonagar gewachsen 10,3 Proz. Aether-Alkohol-Extrakt, hingegen 22,7 Proz. davon enthielt, wenn dem Nährboden 5 Proz. Traubenzucker zugefügt war. Unter den Spaltspitzen ist bekanntermaßen der Tuberkelbacillus durch Fettreichtum

ausgezeichnet (siehe Hammerschlags Untersuchungen) und über den Fettgehalt der Schimmelpilzmycelien haben Naegeli und Löw Mitteilungen gemacht.

Die folgenden Paragraphen behandeln die Farbstoffe und die Flechtenstoffe. Das sonst im Pflanzenreiche so viel verbreitete Chlorophyll ist ja bekanntlich im Reiche der Mikroorganismen nicht zu finden, die Purpurbakterien aber enthalten in dem Bakterio-purpurin einen dem Chlorophyll physiologisch gleichwertigen Stoff. Nach Beijerincks Einteilung gehören die Purpurbakterien zu den chromophoren Bakterien und ihr zum Zellinhalt gehöriger Farbstoff spielt im Leben der Zelle eine wesentliche Rolle; den Gegensatz bilden die den Farbstoff nach außen abgebenden chromoparen Spaltpilze. Sämtlichen Pilzen fehlt ebenso wie das Chlorophyll auch der typische Blütenfarbstoff, Anthocyan. In weitester Verbreitung findet sich dagegen bei Bakterien und Pilzen eine Gruppe von Farbstoffen, die Carotine, in neuerer Zeit durch Kohl bearbeitet. Die hierher gehörigen Substanzen hat man auch als Fettfarbstoffe oder Lipochrome bezeichnet, da sie an Fett gebunden oder in Cholesterin vorkommen. Von allen Bakterienfarbstoffen ist das in *Bacill. prodigiosus* enthaltene Prodigiosin am meisten, so auch von Schrader und Schneider, untersucht worden; auch seien die fluoreszierenden Farbstoffe und das Pyocyanin noch erwähnt. Bezüglich der Flechtenstoffe resp. Flechtensäuren genüge der Hinweis auf die Orseille- und Lackmusfarbstoffe.

Schließlich werden noch die Gerbstoffe, Harze und ätherischen Oele und ähnliche Riechstoffe, sowie der biologische Arsennachweis in gedrängter Kürze behandelt; so hat Lindner über die Fruchtätherbildung der Hefen gearbeitet. Von Bakterien, welche wohlriechende Ester hervorbringen, seien *Bac. suaveolens* und *Bakt. praepollens* genannt, und jeder Bakteriologe, welcher mit Milchuntersuchungen zu tun hatte, wird schon die *Pseudomonas fragariae* und den *Bacill. aromatic. lactis* angetroffen haben, auch der Erreger des „Erdgeruches“ gehört hierher. Forensisch sehr interessant ist, daß Schimmelpilze, welche auf arsenhaltiger Unterlage (arsenhaltigen Tapeten) wachsen, eventuell das so sehr giftige und unangenehm riechende Arsenwasserstoffgas entwickeln können.

Der 3. Abschnitt stellt die Kenntnisse über die „Allgemeine Physiologie der Ernährung der Schizomyceten und Eumyceten (Stoffwechsel)“ zusammen und im 13. Kapitel bespricht Prof. Dr. Benecke-Kiel die „Allgemeine Ernährungsphysiologie“, indem er zunächst mit dem Wesen des Stoffwechsels beginnt und Allgemeines über Assimilation und Dissimilation bringt, auf die Einzelheiten in den folgenden Kapiteln verweisend. Sodann werden die Unterscheidungen in polytrophe und monotrophe Wesen nach Alb. Fischer angeführt und die Sauerstoffatmung besprochen. Bei der Betrachtung der Zersetzung der Proteine wird mit den Schimmel- und Hutzpilzen begonnen (Arbeiten von Wehmer und Will) und mitgeteilt, daß schon Naegeli Abspaltung von NH_3 in Zuchten nachwies. Bei Besprechung der Dissimilation im engeren Sinne, also der Atmung, werden zuerst die Begriffe des aëroben und anaëroben Wachstums genauest präzisiert und dann die Bedeutung der Atmung in Anlehnung an die Pfefferschen Ausführungen (4, Bd. II, p. 875) erwähnt.

Dann folgen die Beeinflussungen durch die Sauerstoffdichte

und die Beobachtungen über deren untere und obere Grenze, und daß die Art der Ernährung hier eine wichtige Rolle spielt, wird an mehreren Beispielen, so *Bac. subtilis*, gezeigt, welcher bei guter Ernährung (δ -Glukose mit Albumose) noch bei 10 mm Druck wuchs, bei minderwertiger aber nur bei höherem Drucke; beides gilt für *Aspergillus niger* und *Penicill. glaucum*.

Die Stoffe, welche der Atmung verfallen, sind entweder organischer, zuweilen auch anorganischer Natur; so verschiedene Fette, Kohlenhydrate, organische Säuren u. s. w. Anorganische Stoffe aber werden durch die Schwefel- und Nitratbakterien verarbeitet (Bd. III).

Die häufig beobachtete und durch Spaltpilze herbeigeführte Säuerung des Nährbodens wird durch Gegenwart von Zucker u. s. w., wobei organische Säuren entstehen, erklärt und sei besonders auf Banings Arbeit, Oxalsäurebildung durch Schimmelpilze verwiesen. Stoffe, welche durch Keime der untersuchten Arten in Oxalsäure verwandelt werden konnten, sind Harnsäure, Kreatin, Kreatinin und aromatische Säuren. Ausführlich wird dann noch das typische Endprodukt der normalen Atmung, die Kohlensäure, besprochen, woran sich noch der Einfluß der Temperatur und des Lichtes auf die Atmung anschließen.

Aus den Mitteilungen über die Ernährungsverhältnisse der Anaërobier sei deren Beziehung zum wechselnden Sauerstoffdruck hervorgehoben; so führt Chudjakow an, daß *Bactridium butyricum* noch bei Sauerstoffgehalt von 0,13 Proz. gedieh, während *Matzuohta* angibt, daß z. B. *Bac. oedematis maligni*, *Bac. sporogenes* nur gediehen, wenn der Sauerstoffgehalt der sie umgebenden Atmosphäre höchstens 0,0310 betrug. Nach neueren Forschungen scheint man strenge Anaërobier allmählich an höheren Sauerstoffgehalt gewöhnen zu können.

Sehr eingehend ist der Wassergehalt des Nährbodens bearbeitet, woran sich die Erfahrungen bezüglich der Auslösung der Sporenkeimung durch chemische Reizung schließen. Auch die Beeinflussung der Gestaltung durch die Ernährungsweise und die Elektion der Nährstoffe bringt sehr viel Neues und für den Bakteriologen Wissenswertes.

In § 80 wird angeführt, daß die Bildung von Enzymen keine gegebene Eigenschaft der Mikroorganismen sei, sondern in weitgehendem Maße von deren Ernährungsbedingungen bestimmt werde. Beginnend mit den Schimmelpilzen, bewies Büsgen, daß *Asperpill. Oryzae* auch auf Bouillon und zuckerhaltigen Nährböden Diastase bilde, und später zeigte Hansen, daß *Penicillium* auf Zuckergelatine zwar ein gelatinelösendes, aber nicht auch ein stärkelösendes Enzym bilde. Die aus solchen Feststellungen sich ergebenden weiteren Fragen sind Veranlassung geworden zu der heute ins ungeheure angeschwollenen Enzymliteratur. Von den Schimmelpilzen werden schon die Schizomyceten u. a. von Wortmann als erstem bezüglich ihrer Enzymbildung in der Abhängigkeit von der Ernährung beobachtet und sei hierauf und auf die Technik von Ernährungsversuchen (p. 363—378) verwiesen.

Im 14. Kapitel bespricht Benecke die spezielle Ernährungsphysiologie und die einzelnen Nährstoffe, beginnend mit den Alkalien. Daß K für Schimmelpilze unentbehrlich ist, wurde schon von Naegeli und Loew bewiesen; eine Reihe späterer Arbeiten brachte das Ergebnis, daß ein Ersatz des K durch NH₃ unmöglich sei und bezüglich der Vertretbarkeit des K durch Li bei Schimmelpilzen ergaben

alle angestellten Versuche, daß Li-Salze schon in geringer Menge in kaliumfreien oder kaliumarmen Nährlösungen alles Wachstum verhindern. Der Ersatz des K durch Na in äquivalenten Mengen mindert die Tauglichkeit der Nährlösung so stark herab, daß wohl kaum andere Erfolge mit ihr zu erzielen sind, als mit Nährlösungen, die überhaupt keine freien Alkalien enthalten, wobei sich ebenfalls stark verlangsamtes Wachstum und Neigung zum Ausbleiben der Fruchtbildung zeigt. Auch Rubidium und Caesium wurden studiert.

Bezüglich der Hefen sind die neuesten Arbeiten von Kossowicz noch nicht abgeschlossen.

Bei Züchtung von Spaltpilzen dürfte die Frage, ob in gewissen Fällen für bestimmte Bakterienarten das K entbehrlich sei, schwer zu entscheiden sein, da bei deren geringem Bedarf an Aschenbestandteilen eine chemische Reinheit der ihnen zu bietenden Nährstoffe kaum möglich ist und daher Fehlerquellen kaum vermieden werden können.

Sodann werden einige Beobachtungen aufgezählt, denen zufolge in bestimmten Fällen K entbehrlich resp. durch Na ersetzbar sein soll und Fraenkel gibt für viele Bakterien, welche er mit Milchsäure und Asparagin fütterte, an, daß man ohne Schaden K durch Na ersetzen dürfe. Li-Salze aber wirken auf Bakterien ebenso schädlich wie auf Schimmelpilze ein.

Auch bezüglich der „Alkalischen Erden“ verdanken wir bei den Schimmelpilzen Naegeli und Loew die ersten Arbeiten, aus denen sich ergibt, daß von den Basen Mg, Ca, Sr und Ba nur eine erforderlich ist, und Raulin bestätigte später bei seinen vielseitigen Zuchten, daß Ca überflüssig sei, wenn Mg geboten wird. Nach Beneckes Erfahrungen ist auch die Reaktion der Nährlösung maßgebend. Sehr erwähnenswert ist ferner, daß bei sinkendem Mg-Gehalt häufig die Konidienbildung gehemmt wird und zwar in stärkerem Maße als die Entwicklung des vegetativen Teiles des Thallus.

Für Hefen ist es Ad. Meyers Verdienst, schon früh auf die Bedeutung der Mg hingewiesen zu haben. Ebenso scheint für Bakterien das Mg ein Nährstoff zu sein, was um so erklärlicher ist, als gewisse Handelssorten von Pepton Mg enthalten, dagegen dürfte Ca für einzelne Arten unnötig sein.

Die Beziehungen der Farbstoffbildung der Bakterien zu den alkalischen Erden ist durch Gassard u. a. an *B. pyocyaneus* studiert worden und liegen hierüber viele Untersuchungen vor. Sehr bemerkenswert sind die abschließenden Befunde Thumms, indem er sagt: „Solange es sich nur um die Entwicklung der einzelnen Arten handelt, ist Naegelis Ansicht vollkommen zutreffend, wenn er sagt, daß Ca durch Mg vertreten werden kann. Bei der Farbstoffbildung trifft dies nicht mehr zu, und Mg kann nie durch Ca ersetzt werden.“

Ebenso eingehend wird über die Elemente der Eisengruppe, ferner Pund S berichtet, denen sich die Untersuchungen über die Stickstoffquellen für die Eumyceten und Schizomyceten anschließen. Dem § 88, welcher die Kohlenstoffquellen behandelt, ist zu entnehmen, daß von einer allgültigen Nährwertskala keine Rede sein kann und daß eine derartige Aufstellung immer nur eine beschränkte Gültigkeit habe, da sie wohl für die meisten der öfter untersuchten Mikroorganismen bestimmend sei, nicht aber für solche mit auffallender ernährungsphysiologischer Anpassung. Schon Naegeli hat eine solche für Schimmelpilze

aufgestellt (p. 417—418). Den Schluß dieses an neuesten Resultaten reichen Kapitels bilden die Abhandlungen über den Nährwert organischer Säuren und Alkohole für Schimmelpilze, Hefen und Bakterien, dem noch der abschließende § 89 über den Kreislauf der Elemente angefügt ist, welcher dann auf die entsprechenden Kapitel verweist, in denen die verschiedenen Stufen dieser Prozesse, soweit sie durch technisch wichtige Mikroben bewirkt werden, eingehend berücksichtigt werden.

Das von Prof. Dr. Emmerling-Berlin geschriebene 15. Kapitel „Die Spaltung racemischer Verbindungen in ihre optisch-aktiven Komponenten durch die Tätigkeit von Kleinlebewesen“ muß dem Einzelstudium überlassen werden.

„Die Wirkung äußerer Einflüsse auf die Gärungsorganismen und die gegenseitige Beeinflussung dieser selbst“ bildet das Thema des 5. Abschnittes des I. Bandes und im 16. Kapitel bespricht Prof. Dr. Behrens-Augustenburg die Beeinflussung der Zuwachsbewegung und der Gestaltung durch physikalische Kräfte. Eingangs wird hervorgehoben, daß das Wachstum bei den verschiedenen Organismen sehr verschieden ist, während bei den Bakterien und den sich anschließenden Hefen das Wachstum auf jede Zelle des Verbandes gleichmäßig verteilt ist, ist solches nach Errera und Reinhardt auf den Spitzenteil der Hyphen bei den Schimmelpilzen und zwar bei den nicht cellulären Phycomyceten als auch bei vielzelligen (*Botrytis*, *Aspergillus*, *Penicillium* u. s. w.) beschränkt. Auch die Wachstumsgeschwindigkeit ist, auch unter gleichen äußeren Bedingungen, bei den verschiedenen Arten verschieden (siehe die Arbeiten von H. Buchner und Naegeli, Brefeld u. a.); so wird angegeben, daß unter optimalen Bedingungen ein Stäbchen des *B. subtilis*, das sich in einer halben Stunde verdoppelt, in 24 Stunden über 281 Trillionen Nachkommen haben könnte.

Mit formalen Bedingungen des Wachstumes werden diejenigen bezeichnet, welche notwendig erfüllt sein müssen, um Wachstum zu ermöglichen; diese bewegen sich in unteren und oberen Grenzen, und dieses Minimum und Maximum resp. Optimum gilt sowohl für Temperatur, als auch für Konzentration der Nährflüssigkeit. Natürlich liegen diese Kardinalpunkte für die verschiedenen Organismen auch wieder verschieden. Es folgt dann die Besprechung des Einflusses der Turgeszenz und des Wassergehaltes, sowie der Temperatur auf das Wachstum der Gärungsorganismen (Tabelle p. 444—445). Beim Einflusse des Lichtes fand u. a. der H. Buchnersche Fundamentalversuch mit Typhusbacillen gebührende Erwähnung. Während für eine Beeinflussung der bakteriellen Wachstumstätigkeit durch den elektrischen Strom noch keine sicheren Beweise erbracht wurden, ist solches um so häufiger bezüglich der Lebensfähigkeit der Gärungsorganismen der Fall (siehe die Arbeiten von Schiel, Cohn und Mendelsohn, ferner u. a. Duclaux). Bei allen diesen Arbeiten leitete man allerdings fehlerhaft den elektrischen Strom durch die Nährmedien in die Bakterien und begünstigte damit wesentlich chemische Schädigungen. Diese Fehlerquelle schlossen dagegen Spilker und Gottstein aus, indem sie das Kulturgefäß mit dem Leitungsdraht umwickelten und durch diesen einen Induktionsstrom leiteten. So gelang die Tötung von *Micrococc. prodigosus* in Wasser oder Nährgelatine, wenn auf den 250 ccm betragenden Glasgefäßinhalt ein Strom von 2,5 Ampère und 1,25 Volt 24 Stunden einwirkte. Andere, so sporenbildende Milchkulturen, waren resistenter. Auch Versuche, die Farbstoffbildung abzu-

schwächen, wurden erfolgreich ausgeführt. Die neueren Versuche aber lassen annehmen, daß der elektrische Strom als solcher irrelevant für das bakterielle Leben ist und nur vermöge der erzeugten Wärme oder hervorgerufener Elektrolyse der Nährflüssigkeit wirkt. Auch die Versuche zur Reinigung von Gebrauchs- und Abwässern resp. deren Sterilisierung sind erwähnt. Schließlich ist noch der Einfluß von Druck, Ruhe und Bewegung an zahlreichen Beispielen angeführt. Zuletzt werden noch die Beeinflussung der Wachstumsrichtung sowie der Ortsänderungen durch äußere Einwirkungen besprochen, welchem sich im 18. Kapitel von Prof. Dr. Behrens noch die Einwirkungen von Temperatur und Licht anschließen. Daß die chemische Zusammensetzung des umgebenden Mediums auf die Beweglichkeit von besonderem Einflusse ist, muß hervorgehoben werden, ebenso die Wirkung einseitig tätiger Reize, auch sei noch auf Beijerincks Atmungsfiguren (p. 478), welche unter dem Einflusse von O bei verschiedenen beweglichen Bakterien zu stande kommen, hingewiesen. Derselbe Autor hat auch das 20. Kapitel: „Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Organismen (Symbiose, Metabiose und Antagonismus) bearbeitet und geht dabei auch auf die neuen Untersuchungen von Nikitinsky ein, welche die gegenseitige Beeinflussung verschiedener Individuen derselben Art betreffen, ein Thema, welches Duclaux für Gärungsorganismen bereits bearbeitet hat, wobei letzterer den Satz aufstellte, daß der Nährboden, in welchem ein Gärungsorganismus wächst, für ihn selbst von Generation zu Generation ungünstiger wird. Diese Frage hat dann Nikitinsky für eine Anzahl von Schimmelpilzen bearbeitet; es dürfte jedoch eine Verallgemeinerung auf für die von diesem Forscher aus seinen Versuchen gefolgerte Begünstigung eines Organismus durch vorherige Kultur desselben oder eines anderen Organismus auf demselben Nährboden kaum zulässig sein.

Das vorhergehende 19. Kapitel aus Prof. Beneckes Feder bespricht die Giftwirkungen, indem es auf Wesen und Beurteilung der Giftwirkung, spezifische Unterschiede in der Widerstandskraft gegen Gifte und Anpassungsfähigkeit der Bakterien an Gifte an der Hand eines reichen, spezialisierten Untersuchungsmaterials eingeht.

Rullmann (München).

Rossi, C., e Pirazzoli, F., Primo contributo alla bacteriologia delle carni insaccate sane. (Archivio di Farmacologia sperimentale. Vol. IV. 1905. p. 193. Mit 1 Tafel.)

Es wurden 14 mit allen Vorsichtsmaßregeln angefertigte Würste des Institutes für landw. Gewerbe in Portici, 10 Marktwürste aus Portici und 9 aus Neapel einer bakteriologischen Kontrolle unterworfen. Früher haben sich nur Deetjen (1890) und Serafini (1892) mit den Bakterien der Wurst beschäftigt.

Aus den Proben wurden Bakterien bisher nur mittels Kartoffeln und alkalischen Agars isoliert und zwar entweder Kokken oder Mesentericus-Formen oder auch beide zusammen. Aus dem mit Wein gewürzten Fleisch erhielten die Verff. auch Hefekolonien. Im ganzen erscheint die Wurstflora sehr einförmig und arm.

Die Mesentericus-Formen gehören alle dem Subtilis-Typus an; eine nähere Bestimmung ist unmöglich. Sämtliche Kokken entsprachen dem von Kern im Vogeldarme gefundenen *Micrococcus excavatus*. Die einzigen geringwertigen Unterschiede liegen darin, daß die Ver-

tiefung der Stickskultur leicht von der typischen zur atypischen Form übergeht, ferner, daß Gelatine nicht immer verflüssigt wird; jedoch konnten die Verff. beobachten, daß solche Eigenschaften in mehreren nachfolgenden Generationen unregelmäßig auftreten und schwinden.

Eine Anwendung des Befundes wurde auch versucht. 3 Würste wurden mit Reinkulturen von *Micrococcus excavatus*, eine vierte Wurst in gewöhnlicher Weise hergestellt. Nach vier Monaten konnte man keinen Unterschied in den vier Würsten auffinden, weder in Bezug auf Geruch und Geschmack noch in der Anzahl und Art der gewonnenen Kolonien.

Offenbar befinden sich alle diese Bakterien in der Wurst nicht recht wohl, denn 10 Monate nach der Darstellung waren 14 Würste des Institutes f. landw. Gewerbe in Portici vollkommen steril geworden. Von einer Anwendung der Reinkulturen bei der Wurstfabrikation kann vorläufig Abstand genommen werden.

Immerhin geben die Verff. zu, daß sie mit Kartoffeln und Agar das Studium der Bakterienflora der Wurst wahrscheinlich nicht erschöpft haben und setzen die Untersuchungen fort.

Pantaneli (Rom).

Momigliano, Enrico, Esame chimico e batteriologico delle acque potabili dei piroscafi addetti al trasporto degli emigranti. (Istituto d'Igiene d. R. Univ. Genova.)

Verf. hat das Trinkwasser einiger großer verschiedenen Nationen angehörigen und in Genua eingelaufenen Dampfer untersucht.

Die Prüfung der analytischen Daten ist nicht sehr ermutigend und zeigt leider, daß fast alle untersuchten Trinkwasser kaum trinkbar waren.

Verf. kommt auf Grund seiner Beobachtungen zu einigen Erörterungen, die bekannt zu werden verdienen.

Vor allem ist es notwendig, daß die Städte, bei welchen die großen Dampfer anlaufen, ein gutes Trinkwasser haben, das an der Quelle überwacht, längs der Leitung vor Verunreinigung geschützt ist und öfters in dem städtischen Laboratorium geprüft wird.

In den Häfen muß die Wasserverteilung durch die an den Anker-tauen befestigten Schläuche erfolgen. Auf keinen Fall darf das Trinkwasser mit dem des Hafens in Berührung kommen.

Die Reinigung der Doppelböden muß nach jeder Reise vorgenommen und verständigen, aber vor allem gewissenhaften Personen anvertraut werden. Diese Reinigung muß dann jedesmal von der Sanitätspolizei des Hafens nachgeprüft werden, selbstverständlich bevor neues Wasser in die Doppelböden eingelassen wird.

Was dann die Verteilung des Wassers von den Doppelböden nach den verschiedenen Teilen des Dampfers hin anbetrifft, so muß jeder Dampfer eine besondere Pumpe besitzen, die jedoch in keinem Falle zur Verteilung des Salzwassers dienen darf. Für dieses letztere soll an Bord jeden Dampfers eine Pumpen- und Röhreneinrichtung existieren, die in jeder Hinsicht absolut von der des Trinkwassers getrennt ist.

Die auf Deck angebrachten Behälter für die Emigranten, von denen Artikel 136 spricht, sollten ebenso abgeschafft werden wie die kleineren in dem oberen Gange stehenden.

Sie sollten durch einen einzigen großen auf dem Mitteldeck angebrachten Behälter ersetzt werden, der mit den Doppelböden mittels besonderer Röhren und Pumpen in Verbindung steht.

Von diesem Zentralbehälter müßten dann Haupt- und Nebenröhren abgezweigt werden, die ein großes Netz ausmachen, dessen einzelne Fäden nach allen Lokalitäten des Schiffes laufen und daselbst in einem automatischen Druckhahn endigen.

Würde die Wasserverteilung derart eingerichtet, so würden daraus folgende Vorteile hervorgehen:

1) Sichere Gewähr für die Integrität und Erhaltung des Trinkwassers, insofern, als der Umlauf des Wassers mit einer immer ausschließlich zur Verteilung des Süßwassers bestimmten Pumpe besorgt wird.

2) Sichere Gewähr für Reinheit und Güte des Süßwassers, da mit der Unterdrückung der Behälter auf Deck und in dem oberen Gang ebensoviel Verunreinigungsherde des Trinkwassers unterdrückt würden, das desto eher rein erhalten bleiben wird, je minderzählig die Behälter sind, in denen es ruht. Die mit Scharnieren versehenen Behälter, wie solche auch heute noch auf den meisten Auswandererschiffen existieren, sind schwer reinzuhalten, den Auswanderern zu leicht zugänglich und stellen an die Ueberwachung von seiten der Schiffssanitätspolizei zu große Ansprüche, die sich nicht immer auf den Fleiß und den guten Willen des Schiffsunterpersonals verlassen kann.

Ueberdies ist ihr Ausgabehahn zu nahe dem Boden des Decks und kann so allerhand Unreinliches und jede Art Keime aufnehmen, was sich täglich bei Gelegenheit der Deckreinigung wiederholt.

Angesichts des gegenwärtigen Zustandes des Wassers der Bahnen, das notwendigerweise und zum größten Teile als verdächtiges und verunreinigtes Wasser qualifiziert wird, sowie des obwaltenden fehlerhaften Systems der Wasserausgabe und -Verteilung an Bord der großen Dampfer hielt Verf. es für unerlässlich, daß unter der großen Anzahl von Neuerungen, die in die neue Auswanderungsvorschrift eintreten sollen, auch diejenige sich vorfindet, die vorschreibt, daß an Bord aller Schiffe sich ein aus der großen Anzahl neu erfundener Vorrichtungen gewählter Apparat für die Filtration des Trinkwassers vorfinden muß. Die Wahl des passendsten Typus kann dann von der Vorschrift selbst näher bestimmt werden.

Als Standort müßte ihm ein Platz zwischen dem auf dem Mitteldeck angebrachten Zentralbehälter und den von da auslaufenden Abzweigungen angewiesen werden. Seine Leistungsfähigkeit müßte natürlich den Ansprüchen des Bordlebens angemessen sein.

Mit einer solchen Einrichtung wäre nach Verf. jeder Verdacht auf Verunreinigung des Trinkwassers ausgeschaltet. Die Kommandanten der Schiffe könnten ohne irgend welche Schwierigkeit in allen Häfen Wasser einnehmen, für die staatlichen Kontrollbeamten und für das ganze Sanitätspersonal des Schiffes wäre die lästige Ueberwachung und das stete Mißtrauen in das mit der Reinigung der Doppelböden und der Nebenbehälter betraute Personal verringert, wenn nicht ganz geschwunden.

Unter allen Umständen wäre das Wasser dann — nach Verf. — stets klar, welches auch immer die Stoffe sein mögen, die es tragen kann.

Bertarelli (Turin).

Corsini, A., Sulla vera natura della cosiddetta „albumina“ delle acque termali di Porretta. Di un microorganismo non ancora descritto da quella isolato. (Lo Sperimentale. 1905. Fasc 2.)

Im Badeorte Porretta (Toscana) nennt man „Albumin“ eine Sub-

stanz, die sich nicht damit begnügt, sich mit großer Leichtigkeit und reichlich an den Wänden und dem Boden der stehendes Wasser fassenden Behälter anzusetzen und ebenso an der Oberfläche der Gegenstände, die zufällig darin eingetaucht werden, sondern vor allem einen zuweilen einige Millimeter dicken schleiermäßig über die Wasseroberfläche ausgedehnten Ueberzug bildete, sobald das Wasser einige Tage lang in einem der Badebehälter verbleibt.

Es handelt sich da um eine weiche, vollauf gelatineartige, weiße oder gelblichweiße Substanz, die im frischen Zustande einen Stich ins Rötliche hat, nach einigem Stehen rostfarben wird, dagegen mehr oder weniger schwarz, sobald sie sehr alt ist, oder in der Nähe einer Bleiröhrenleitung steht. Ist dieser Stoff frisch, so ist er fast geruchlos, später aber nimmt er einen ziemlich scharfen Geruch an, der so ziemlich dem des gemischten Jods gleicht und den ekelregenden Eindruck macht, den alle in Fäulnis übergehenden Substanzen hervorrufen.

Verf. hat nun diese Substanz, der große therapeutische Eigenschaften zugeschrieben werden, bakteriologisch untersucht und hat einen Keim vorgefunden, der einige bedeutende morphologische Eigentümlichkeiten aufweist. In einem aus einer 24-stündigen Agarkultur stammenden hängenden Tropfen beobachtet, hat dieser Mikroorganismus eine eher gedrängte Bacillenform, zuweilen ist er auch oval oder sieht selbst wie ein wahrer Coccus aus. Viel leichter als isoliert findet man ihn gepaart vor und zwar in Form einer 8, doch fehlt es auch nicht an zuweilen langen, aus mehreren und vielen Elementen bestehenden Fadenformen.

Er mißt ungefähr $2,5 \mu$ in der Länge und $1,1 \mu$ in der Breite. Sodann besitzt er eine außerordentliche Beweglichkeit, die ihn bald auf dem einen, bald auf dem anderen Punkt des mikroskopischen Feldes erscheinen läßt, und ihn auch befähigte, sich rasch um sich selbst zu drehen.

Er ist dann mit den gewöhnlichen Anilinfarben leicht färbbar. Nicht so leicht geht diese Färbung jedoch vor sich, wenn man es mit ziemlich alten Kulturen zu tun hat, von denen sich überhaupt nur einige involutive Formen färben lassen, während die normal erscheinenden Elemente farblos bleiben oder nur an den Polen sich färben lassen.

Er färbt sich nicht nach Gram, Claudius und Ziehl. Sehr leicht bekommt man ihn sodann mit einer langen Wimper zu sehen, die von einem Pole des Mikroorganismus ausgeht, spiralförmig ist und den Mikroorganismus an Länge 2—3mal überragt. Der Keim verflüssigt die Gelatine nicht.

Verf. hält den Keim für eine neue Art und nennt ihn *Pseudomonas porrettana*.

Auf die Frage, ob die Bildung des sogenannten Albumins von diesem Keim abhängt, und nur von ihm, darüber kann sich Verf. heute noch nicht erschöpfend auslassen.

Bertarelli (Turin).

Stahl, Walther, Bakteriologische und chemische Untersuchungen über Verunreinigung und Selbstreinigung kleinerer Flußläufe in der Umgebung von Freiburg i. B. 8°. 78 p. [Diss.] Freiburg i. B. 1904.

Verf. versuchte durch die zu verschiedenen Jahreszeiten entnommenen Proben festzustellen, daß die Temperaturschwankungen wie Jahreszeiten keinen allzugroßen Einfluß auf die Kolonienzahl der verschiedenen Species ausüben.

Außerdem zeigte sich bei den kleinen Gebirgsbächen noch deutlich, daß der reine Oxydationsprozeß besonders infolge des sprudelnden Gefälles von ausschlaggebender Bedeutung ist, wie die geringe Kolonienzahl von der Quelle bis zu den ersten Ortschaften bei sämtlichen drei untersuchten Wasserläufen zeigt. Dieses letztere Reinigungsmittel fehlt bei tiefen, ruhig dahinfließenden Gewässern, denn sie besitzen eine im Verhältnis zu ihrer Wassermasse nur geringe, den oxydierenden Einwirkungen der Luft ausgesetzte Oberfläche, doch wird es bei ihnen durch die bessere Sedimentierung ersetzt.

Bei zwei Wasserläufen konnte man bemerken, daß eine Selbstreinigung eintritt, wenn im Verhältnis zur Verunreinigung die Wassermasse eine genügende ist.

Die Bakterienarten waren bei sämtlichen Flußläufen durchschnittlich die gleichen: die speziellen Arten traten dort immer wieder auf, wo analoge Verunreinigungen durch Kanalwasser, Unrat von Haushaltungen, Bierbrauereien, Schachthäusern, Mühlen und andere gewerbliche Anlagen entstanden, um dann wieder durch das Auftreten bestimmter, wohl charakterisierter Bakterienformen (reine Zehrer, flüssige Fluorescens u. s. w.) überwuchert und vernichtet zu werden. E. Roth (Halle).

Kolkwitz, Die Beurteilung der Talsperrenwässer vom biologischen Standpunkt. (Journal für Gasbeleuchtung und Wasserversorgung. Jahrg. XLVIII. 1905. No. 43.)

Den Ausführungen, die einen Vortrag auf der 45. Jahresversammlung des deutschen Vereins von Gas- und Wasserfachmännern wiedergeben, liegen Beobachtungen an der Talsperre von Remscheid zu Grunde. Verf. kommt zu einer sehr günstigen Auffassung von der biologischen Wirksamkeit von Talsperren, die er folgendermaßen begründet. Die großen Becken, die als Sperren dienen, verursachen einen langen Aufenthalt des zufließenden Wassers und infolgedessen ein ausgiebiges Niedersinken der Schwebstoffe, die vorher das Flußwasser trübten. Als zweiter Reinigungsfaktor kommt die Verdünnung in Betracht, die schädliche Stoffe event. pathogene Keime in dem Stausee erleiden; diese Verdünnung kann bei genügender Größe des Staubeckens eine ganz enorme werden; ferner werden viele Keime durch den vorher erwähnten Sedimentierungsprozeß mit in den Schlamm niedergerissen, wo sie liegen bleiben und allmählich zu Grunde gehen. Ein weiterer Bakterienfeind sind Planktonorganismen, unter diesen besonders Radiolarien, die Verf. direkt „Bakterienfresser“ nennt. Die Planktonorganismen kommen aus dem zufließenden Wasser oder werden durch Wasservögel, Staub, Käfer etc. von anderen Seen übertragen und vermehren sich nun in dem stehenden Wasser sehr lebhaft.

Außer der bakteriellen findet auch eine chemische Reinigung des Talsperrenwassers statt, und hier sind es besonders chlorophyllführende Organismen, die im stande sind, im Tageslicht Sauerstoff zu produzieren, und so auf organische Bestandteile oxydierend wirken. Fäulnisbakterien wandeln stickstoffhaltige Bestandteile in Ammoniak um, das weiter durch biologische Vorgänge zu salpetriger und schließlich Salpetersäure oxydiert wird, die dann in Form von Nitraten einen wichtigen Dünger für die in der Talsperre lebenden Pflanzen darstellen. Andere Organismen, Schlammregenwürmer (Tubificiden) bewirken gemeinsam mit den bakteriellen Erregern der Methanbildung eine gewisse Schlammverzehrung.

Temporäre Nachteile bei Talsperren sind: im Betriebsbeginne Fäul-

nis der am Boden der Talmulden vorhandenen Kräuter, Sträucher etc. Uebermäßige Entwicklung von Planktonorganismen, die natürlich die Sandfilter sehr belasten. Fischiger Geruch des Wassers, hervorgerufen durch *Asterionella*, eine Planktonart, die gewisse Oele enthält.

Fischzucht kann im Talsperrewasser gestattet werden, jedoch nur, soweit der See durch seinen Bestand an natürlicher Nahrung für ihre Erhaltung sorgen kann. Fütterung ist auszuschließen. Filtration des Talsperrenwassers ist aus mancherlei Gründen empfehlenswert; man verwendet Sandfilter oder Rieselwiesen, beide mit bestem Erfolge.

Seligmann (Berlin).

City of Manchester. Rivers Department. Annual Report for the Year ending March 29th, 1905. London (P. S. King and Son). 2 s. and 6 d.

Die im Jahre 1894 in Davyhulme bei Urmston in Betrieb genommenen Abwasseranlagen, in welchen ursprünglich die Abwässer von Manchester einer chemischen Behandlung mit Kalk und Eisenvitriol unterworfen worden waren, sind jetzt nahezu vollständig zur Reinigung der Wasser nach dem künstlichen biologischen Verfahren, dem einstufigen wenigstens, umgebaut. Die auf der Reinigungsanlage ankommenden Abwässer passieren zuerst ein System von Rechenanlagen, dann Sandfänge und gelangen alsdann teils in offene Faulbecken und Füllkörper, teils in Absitzbecken und sogenannte Sturzregenwasserfilter¹⁾. Diese Abflüsse fließen zur Zeit dem Schiffahrtskanal Manchester-Liverpool direkt zu; später sollen die Abflüsse aus den Füllkörpern sekundären Füllkörpern zugeführt, die Abflüsse hieraus durch Land nachbehandelt und erst nachher dem Schiffahrtskanal überantwortet werden. Der bei der Reinigung der Abwässer anfallende Schlamm wird zum größten Teil (siehe unten) per Schiff in die See gefahren und hier versenkt. Ein kleiner Teil des Schlammes wird gepreßt und an die Anlieger zu landwirtschaftlicher Verwendung abgegeben.

Die Abwasseranlagen von Manchester umfassen ein Gebiet von rund 74 ha. Die Faul- und Absitzbecken bedecken ein Gebiet von 4,3 ha, die Gebäude und Schlamm-trockenplätze ein solches von 6,0 ha, die Ufer- und Werftanlagen nehmen 2,0 ha ein, die Füllkörper 17,1 ha, die im Bau befindlichen Füllkörper 1,3 ha und die Sturzregenwasserfilter 10,4 ha. 32,2 ha sind noch frei von Abwasseranlagen.

Die auf den Reinigungsanlagen im Berichtsjahre angekommene Abwassermenge betrug rund 50 000 000 cbm und die durchschnittliche tägliche Abwassermenge 140 000 cbm. Auf den Kopf der angeschlossenen Bevölkerung entfielen im Durchschnitt 280 Liter Abwasser.

An Schlamm wurden insgesamt rund 150 000 Tonnen erhalten, das sind in der Woche durchschnittlich 2850 Tonnen oder 3 Liter Schlamm (Wassergehalt 90 Proz.) für jedes Kubikmeter des behandelten Abwassers. Nur 5000 Tonnen konnten an die Landwirte abgegeben werden; 145 000 Tonnen waren per Schiff zu beseitigen.

Durch die biologischen Körper (Füllkörper und Sturzregenwasserfilter) wurden in der Berichtszeit rund 42 000 000 cbm behandelt. Dies sind täglich rund 115 000 cbm oder 83,5 Proz. der gesamten, auf den Abwasseranlagen ankommenden Abwassermenge.

Die Kosten der Abwasserreinigung beliefen sich auf insgesamt

1) Bezüglich der Nomenklatur vergl. Bredtschneider und Thumm, Mitt. a. d. Königl. Prüfungsanstalt, Heft 3, S. 1. Berlin (Hirschwald).

0,6 Pf. für jedes Kubikmeter des behandelten Abwassers, Verzinsung und Tilgung des Anlagekapitals nicht mitgerechnet; hiervon betragen die Kosten für die Schlammabeseitigung 0,25 Pf., die Ausgaben für Kohlen und Verschiedenes 0,352 Pf.; die Behandlung der Abwässer in den biologischen Körpern kostete, da eine Entschlammung des Körpermaterials bislang noch nicht erforderlich war, nur 0,08 Pf. Die Betriebskosten berechnen sich in dem Berichtsjahre hiernach zu 50,4 Pf. auf den Kopf der an die Kanalisation angeschlossenen Bevölkerung.

Thumm (Berlin).

Buchner, Ed. und Antonl, W., Existiert ein Enzym für die Zymase? (Zeitschrift physiol. Chemie. Bd. XLIV. 1905. p. 136—154.)

Harden und Young haben angegeben, daß die Gärwirkung des Hefepreßsaftes auf Zucker durch Zusatz von aufgekochtem, selbst nicht mehr gärkräftigem Preßsaft wesentlich erhöht werden kann. Sie waren geneigt, in dem gekochten und filtrierten Saft einen Bestandteil anzunehmen, welcher den von früheren Beobachtern beschriebenen Kofermenten ähnlich ist. Verff. haben die Versuche der beiden Autoren mit Preßsaft wiederholt und gleichzeitig geprüft, wie weit die in der Versuchsanordnung begründeten Mängel, die Aenderung der Zuckerkonzentration und des Alkoholgehaltes die Resultate zu beeinflussen vermögen. Zunächst wurde in völliger Uebereinstimmung mit den Angaben der englischen Forscher festgestellt, daß beim Verdünnen von Preßsaft mit 1—8 Vol. Kochsaft bei Zusatz der gleichen Zuckermenge eine Steigerung der Gärkraft am ersten Tage bis auf das Doppelte, nach 4—7 Tagen Gärdauer als Gesamtwirkung auf das 3—5fache eintritt. Mit der Menge des zugesetzten Preßsaftes steigt auch die Dauer der Gärwirkung, es bleibt also die Zymase länger wirksam. Das Maß der Steigerung sowohl der Anfangsgärung wie der Gesamtgärkraft hängt wesentlich von der Gärkraft des Preßsaftes ab. Die Vergärung von Glukose und Rohrzucker wird durch Kochsaft in gleicher Weise beeinflußt.

Die Gegenwart von Phosphorsäure im Kochsaft und die mit steigendem Kochsaftzusatz sinkende Zucker- und Alkoholkonzentration sind wohl hauptsächlich die Ursache der Wirkung des Kochsaftes. Wahrscheinlich kommen als wirksames Prinzip auch organische Phosphorsäureverbindungen in Betracht. Ob man eine solche verhältnismäßig einfache Substanz, welche z. B. dem Lecithin nahestehen könnte, zweckmäßig als Koenzym bezeichnet, ist fraglich.

Verff. haben noch den Einfluß des Manganosulfat, Aluminiumsulfat, Ferrosulfat und Kobaltosulfat ohne Erfolg geprüft, außerdem, ob die zellfreie Gärung durch Zusatz von Asparagin, Glykokoll, Harnstoff, Guanin, Pepton und verschiedene Albumosen gefördert wird. Nur bei Zusatz von 0,6 Proz. Harnstoff bzw. Glykokoll wurde eine kleine, kaum nennenswerte Erhöhung festgestellt. Ein durch Dialyse fast wirkungslos gewordener Saft wird durch Zufügen des eingedämpften Dialysates oder von Kochsaft wieder wirksam. Ebenso kann die Gärwirkung der Acetonfällung aus Preßsaft durch Zusatz von Kochsaft wesentlich gesteigert werden. Die Gärkraft der Fällung durch 1 Vol. Aceton konnte durch Zusatz von Kochsaft auf das Dreifache, die Gärkraft der Fällung durch 10 Vol. Aceton dagegen nur auf das 2 $\frac{1}{2}$ fache gesteigert werden. Der Salzgehalt des Niederschlages steigt mit der Menge des angewandten Fällungsmittels.

H. Will (München).

Kolle, Friedel, Kutscher und Meinecke, Milchhygienische Untersuchungen. (Klinisches Jahrbuch. Bd. XIII. 1904.)

Die Arbeit zerfällt in drei Teile: I. Bestimmung der Widerstandsfähigkeit der pathogenen Bakterien in Milch gegen Erwärmung auf verschiedene Temperaturen. II. Untersuchungen über die baktericidien und entwicklungshemmenden Wirkungen der rohen und der auf verschiedene Temperaturen erwärmten Milch gegenüber verschiedenen Bakterienarten. III. Untersuchungen über die Wirkung des Formaldehyds auf die Haltbarkeit der Milch, die Milchbakterien und verschiedene pathogene Bakterien. Als solche wurden herangezogen: Typhusbac., Paratyphus, Bact. enteritidis, Dysenteriebac., Cholera-bac. und Bacterium coli. Zu den Versuchen wurde eine möglichst keimarme Milch einer Berliner Meierei benutzt, welche sich mitunter als nahezu steril erwies, während andererseits mehrere Tausend Keime pro ccm gefunden wurden. Es fehlt die von Ostertag bei derartigen Versuchen geforderte Angabe, daß die Milchproben vor dem Versuch nach einer der üblichen Methoden geprüft worden sind, ob sie nicht etwa vorher erhitzt waren. Dies wäre bezüglich der nahezu sterilen Proben für die Bewertung der Ergebnisse erwünscht gewesen, zumal in derselben Meierei ein durch den ärztlichen Mitinhaber angeordneter Versuch einer „Täuschung“ durch Abkochen der Milch vor der bakteriologischen Untersuchung gerichtlich erwiesen wurde.

Betreffs der ersten Frage haben die Untersuchungen ergeben, daß die genannten Krankheitserreger in der Milch mit Sicherheit abgetötet werden, wenn die letztere 10 Minuten auf 60° C erwärmt gehalten wird. Die Autoren halten es für notwendig, das Anreicherungsverfahren mit Bouillon als Vorkultur zum Nachweis heranzuziehen, ob sämtliche in die Milch eingesäte Keime abgetötet sind, da vereinzelt Keime sich nur so, nicht durch das Plattenverfahren ohne Vorkultur nachweisen lassen. Verff. halten es ferner durch ihre Versuche für bewiesen, daß Cholera, Typhus, Dysenterie, Coli, die Bakterien der Fleischvergiftung bei denselben Temperaturen in der Milch abgetötet werden, wie sie für diese Bakterien bei Suspensionen im Wasser oder Bouillon unter analogen Versuchsbedingungen gefunden worden sind. Dieses Ergebnis stimmt nicht mit den Erfahrungen anderer Autoren sowie denen des Ref. überein, welche in Wasser und Bouillon suspendierte Keime bei niedrigeren Temperaturen abtöten konnten wie in Milch. Allerdings haben die Verff. nur Laboratoriumsversuche mit 1/2 bis 1 Literkolben sterilisierter und darauf infizierter Milch vorgenommen, während zur Entscheidung derartiger Fragen einzig und allein Versuche in Apparaten, wie sie in den Molkereien benutzt werden, heranzuziehen sind. Diese Forderung der Milchhygieniker, Laboratoriumsexperimente über die Abtötung pathogener Keime in der Milch nicht auf die Praxis übertragen zu wollen, ist erst neuerdings auf dem Brüsseler Kongreß betont worden, s. auch Tjaden, dieses Centralblatt. Ref. Abt. I. Bd. XXXIV. p. 588. Deshalb ist auch folgende Ansicht der Verff. „im Großbetrieb wird das, was hier durch Laboratoriumsversuche im kleinen erreicht ist, sicher erzielt werden, weil bei Erwärmung größerer Milchmengen eine viel größere Zeit gebraucht wird, um die Temperatur von 60° zu erreichen. Auch bleibt diese Temperatur länger erhalten als bei Versuchen im kleinen“ verfehlt. Sie steht im direkten Gegensatz zu der erst kürzlich (dieses Centralblatt. Bd. XXXIII. p. 174) ausgesprochenen Forderung von Bang, eines der ersten Fachmänner auf diesem Gebiet, welcher für die Molkereien eine höhere Pasteurisationstemperatur verlangt als die, welche nach den Laboratoriumsversuchen zur Abtötung der Bakterien ausreicht. Diesen Erfahrungen kann sich Ref. auf Grund eigener Versuche in Großbetrieben und

spezieller darauf gerichteter gemeinschaftlicher Versuche mit Bugge, welche von Geh. Koch veranlaßt wurden, nur anschließen. Die Verff. hätten sich von dieser Tatsache mit Leichtigkeit durch einige Untersuchungen pasteurisierter Milchproben aus der Meierei, die ihnen die rohe Milch geliefert hatte, überzeugen können. Sie hätten in diesen Proben sicherlich häufig und in großer Zahl virulente Streptokokken gefunden, welche sie von den Laboratoriumsversuchen leider ausgeschlossen haben. Auf ihr Vorkommen hat seinerzeit schon Beck hingewiesen, auch neuerdings¹⁾ wird den Streptokokken in der rohen und pasteurisierten Milch größere Aufmerksamkeit geschenkt. Gerade die Abtötung der ziemlich resistenten Milchstreptokokken möchte Ref. als Kriterium für die Leistungsfähigkeit der Pasteurisierungsapparate aufgestellt wissen. Daß „alle pathogenen Keime, welche vom Darm aus den Menschen infizieren können, auf diese Weise abgetötet werden“, wie Verff. annehmen, widerspricht auch den Erfahrungen Geh. Kochs, welcher die meisten jetzt gebräuchlichen Pasteurisierungsapparate für unsicher hält. „Ich will nicht behaupten (I. internationale Tuberkulosekonferenz, Berlin 1902. p. 355), daß sie überhaupt unsicher sind; so lange man sie kontrolliert und sie ganz genau so funktionieren, wie es vorgeschrieben ist, gelingt wohl die Sterilisierung; aber sobald wir sie sich selbst überlassen, fällt die Sterilisierung recht unsicher aus, wovon ich mich bei verschiedenen Gelegenheiten habe überzeugen können.“

Betreffs der Frage II haben die eingehenden Versuche, welche sich auf das Verhalten von Typhus- und Cholerabacillen in der rohen Milch beziehen, ergeben, daß eine keimtötende Wirkung in nicht geringem Grade den Choleravibrionen gegenüber vorhanden ist. Keimtötende Einflüsse der frischen Milch auf Typhus, Dysenterie, Coli etc. konnten nicht nachgewiesen werden. Entwicklungshemmende Eigenschaften besitzt die frische Milch dem Dysenteriebacillus gegenüber in geringem Grade, dieselben werden durch Erhitzung auf mehr als 70° C getötet.

Durch den Zusatz von Formaldehyd von 1:25—40000 wird der Milch eine größere Haltbarkeit verliehen. In den beiden ersten Tagen bleibt bei einer ursprünglich keimarmen Milch die Bakterienentwicklung gering. Vom 3. Tage ab beginnt allerdings die Bakterienvermehrung, wenn die Aufbewahrung bei Zimmertemperatur erfolgt. In erster Linie werden die Milchsäurebakterien durch das Formaldehyd am Wachstum verhindert. Die Typhus-, Dysenterie-, Cholerabakterien etc. erfahren zwar eine stärkere Abnahme in der rohen Formaldehydmilch als in der rohen reinen oder der gekochten oder der auf 60° C erwärmten Formaldehydmilch, sie sind aber noch bis zu 3—5 Tagen in der Formaldehydmilch nachweisbar. Die mit der Formaldehydmilch angestellten Versuche stimmen somit mit den ungünstigen Ergebnissen anderer Autoren überein.

Betreffs der Einzelheiten der interessanten und eingehenden Versuchsreihen sei auf die genaue Beschreibung und Aufzeichnung der Versuche im Original hingewiesen, welchem eine große Anzahl von Tabellen beigefügt ist.

Lydia Rabinowitsch (Berlin).

D'hell, Beitrag zur Frage des Bakteriengehaltes der Milch und des Euters. (Zeitschr. f. Fleisch- und Milchhygiene. Bd. XVI. 1905. Heft 3. p. 84.)

Verf. Untersuchungen wurden durch die Arbeiten von Lux, Uhl-

1) Petruschky, Brüning, Bergey, Trommsdorff und Rullmann.

mann, Steiger (dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. XXXV und Abt. II. Bd. XI) angeregt und betrafen folgende Punkte: 1) Herkunft der Bakterien in der Milch; 2) Einfluß der Art des Melkens auf den Bakteriengehalt; 3) Einfluß des Seihens; 4) Aussichten zur Gewinnung einer bakterienfreien Milch. Die Untersuchungen haben folgende Ergebnisse gehabt:

1) Bei Kühen, die regelmäßig gemolken und reinlich gehalten werden, bildet sich an der Zitzenmündung gewöhnlich kein Schmutzpfropf. Werden Kühe nicht gemolken, dann entsteht in der Regel ein solcher. Die Bildung eines Pfropfes nimmt einige Tage in Anspruch und sein Bakteriengehalt steigt mit seinem Alter.

2) Im Zitzenkanal (nicht im Strichkanal) eines milchhaltigen Euters befindet sich eine Milchsäule.

3) Strichkanal und Zisterne sind regelmäßig von Bakterien bewohnt.

4) Die Bakterien, die sich innerhalb des Euters in der Milch vorfinden, sind durch die Zitzenöffnung hineingelangt.

5) Das Drüsengewebe des Euters enthält Bakterien, aber nur in geringer Zahl.

6) Das Drüsengewebe des Euters besitzt eine stark bakterientötende Kraft.

7) Der erste Milchstrahl ist fast immer der bakterienreichste.

8) Der höhere Keimgehalt der Melkmaschinenmilch ist durch die Schwierigkeit, die das Reinigen solcher Maschinen bietet, bedingt.

9) Das Seihen der Milch ist für deren Bakteriengehalt belanglos. Dasselbe empfiehlt sich lediglich zur Säuberung der Milch vom Schmutz.

Ref. möchte bezüglich Punkt 4 bemerken, daß die Bakterien nicht nur durch die Zitzenöffnung ins Euter gelangen, sondern auch auf hämatogenem Wege. Letzterer Infektionsmodus ist nunmehr von verschiedenen Autoren einwandfrei festgestellt worden, so daß negative Versuche durchaus nichts beweisen. Ferner ist betreffs Punkt 7 zu bemerken, daß diese früher fast allgemein geltende Ansicht durch neuere Versuche bereits bedeutend modifiziert worden ist.

Lydia Rabinowitsch (Berlin).

Stritter, Ueber Körper im Serum normaler und pathologischer Milch, welche mit Beta-Naphtalinsulfochlorid reagieren. (Milchwirtschaftl. Centralbl. 1905. Heft 10.)

Das neue Verfahren des Nachweises der Aminosäuren im Urin durch Beta-Naphtalinsulfochlorid nach E. Fischer und P. Bergell bot Verf. die Veranlassung, derartige Untersuchungen bezüglich des Gehaltes an Aminosäuren in Milch durchzuführen.

Die Milch wurde spätestens 4 Stunden nach dem Melken mit Almenscher Gerbsäurelösung eiweißfrei gemacht, das Tannin mit Bleizucker beseitigt und durch Schwefelwasserstoff das Blei gefällt, worauf der Schwefelwasserstoff auf dem Wasserbade verjagt wurde. Die auf alkalische Reaktion gebrachte Flüssigkeit wurde dann mit 10 Proz. Beta-Naphtalinsulfochlorid versetzt und unter Erhaltung ihrer alkalischen Reaktion 9 Stunden geschüttelt. Im weiteren Verfahren wurde nach mehrfachen Reinigungsmaßnahmen eine sehr geringe Menge mikrokristallinischer Substanz (gleich 0,002 g N) erhalten. Verf. nimmt an, das Vorhandensein einer Aminoverbindung oder eines Körpers, der mit dem Beta-Naphtalinsulfochlorid in Wechselwirkung getreten wäre, in frischer Milch zwar nicht positiv nachgewiesen zu haben, hält es aber für sehr wahrscheinlich, daß in äußerst geringer Menge sich eine Stickstoff-

verbindung vorfand, die mittels des Beta-Naphtalinsulfochlorids aus dem Milchserum isoliert werden konnte.

(Bei dem komplizierten Gang der Analyse wäre es, um dem gefundenen Ergebnis Bedeutung zu geben, wohl besonders notwendig gewesen, von Parallelbestimmungen wie blinden Bestimmungen ausreichenden Gebrauch zu machen. Diesbezügliche Angaben finden sich aber in der als vorläufige bezeichneten Veröffentlichung nicht. Außerdem fehlen Mitteilungen darüber, ob die Methode durch Verarbeitung bekannter Aminosäuremengen in Milch auf ihre Leistungsfähigkeit für diesen speziellen Zweck geprüft wurde.)

Ehrenberg (Breslau).

Gorini, Ueber die Gegenwart von säure-lab-bildenden Bakterien im reifenden Käse. (Milchwirtschaftliches Centralblatt. 1905. Heft 11.)

Verf. findet in Hartkäsen vorgeschrittener Reife Lab-Säure-Bakterien, und zwar Kokken, sowie den sporenbildenden, gut charakterisierten *Bacillus acidificans presamigenes casei*. Er nimmt an, daß diese Lab-Säure-Bakterien — die sich von einigen *Tyrothrix*-Varietäten dadurch unterscheiden, daß ihre Fähigkeit, Säure zu bilden, als normale zu bezeichnen ist, und nicht mit der Abnahme der Peptonisierungsfähigkeit Hand in Hand geht — dank ihrer Eigenschaft, das Kasein in saurer Umgebung zu peptonisieren und in Symbiose mit wirklichen Milchsäurefermenten zu leben in der Lage sind, in einer noch nicht bekannten Weise den Käsereifungsprozeß zu beeinflussen.

Im Zusammenhang mit diesen Ergebnissen verlangt Verf. die Unterscheidung von:

- 1) Milchzuckerfermenten, Milchsäurefermenten, die Milch säuern ohne sie zu peptonisieren,
- 2) Kaseinfermenten, Bakterien, die peptonisieren ohne zu säuern und
- 3) Milchzucker- und Kaseinfermenten, Lab-Säure-Bakterien, welche beide Veränderungen hervorbringen.

Ehrenberg (Breslau).

Maassen, Ueber Gallertbildungen in den Säften der Zuckerfabriken. (Arbeiten aus der biologischen Abteilung für Land- und Forstwirtschaft am kais. Gesundheitsamte. Bd. V. Heft 1.)

Verf. geht kurz auf die Gallertbildung in Zuckerfabrikprodukten, besonders in ihren Säften ein. Von ihnen trat zur Zeit des hydraulischen Preßverfahrens besonders der *Streptococcus mesenterioides* (*Leuconostoc*) auf, während nach Einführung des Diffusionsverfahrens in den Zuckerfabriken sein Erscheinen seltener Schädigungen verursacht, wobei dann meist festzustellen ist, daß alkalische Reaktion der betr. Flüssigkeiten den Schädling begünstigt. Ebenfalls Gallertbildungen veranlassend wirkt das *Bacterium* oder *Clostridium gelatinosum*, das von Glaser, Poupe und Laxa beobachtet wurde. Ihm verwandt, aber nicht mit ihm identisch ist der von Verf. eingehend beschriebene Gallerterreger, als *Semiclostridium commune* bezeichnet. Die eingehenden Mitteilungen über morphologisches und chemisches Verhalten des *Semiclostridium* sowie über sein Wachstum auf künstlichen Nährböden sind im Original zu vergleichen. Hervorzuheben ist nur, daß es in neutralen und stark alkalischen Peptonlösungen mit 10—20 Proz. Rohrzucker und 1—3 Proz. Salpeter Schaumbildung an der Oberfläche der Flüssigkeit hervorrief, eine Gärung, die nach Verf. mit dem in den Zuckerfabriken unter dem Namen Schaumgärung bekannten Vorgang wahrscheinlich identisch ist.

Von Verwandten des *Semiclostridium commune* wurden noch drei, flavum, rubrum und citreum gefunden. Zur Artbestimmung wurde das Agglutinationsverfahren herangezogen. Die sehr widerstandsfähigen Organismen sind im Betriebe der Zuckerfabriken am besten dadurch zu bekämpfen, daß eine Abkühlung der Vorprodukte unter 60° vermieden wird.

Ehrenberg (Breslau).

Bokorny, Th., Ueber das Bindungsvermögen der Hefe für Farbstoffe und gewisse Metallsalze. (A. Br. u. H.-Ztg. 5. Aug. 1905.)

Methylenblau in der Verdünnung 1:10000 färbt die Hefe binnen wenigen Minuten deutlich. Dabei behalten die Zellen ihre Sprossungsfähigkeit und ihr Gärvermögen. An den Sproßverbänden sind gefärbte und ungefärbte Zellen nebeneinander zu sehen. Aehnlich verhält sie sich in Lösungen 1:100000 und sogar 1:1000000, nur ist die Färbung dementsprechend schwächer.

Methylviolett von 1:10000 färbt die Hefe binnen wenigen Minuten, tötet sie aber zugleich. 1:1000000 färbt binnen 20 Stunden etwas; Hefe bleibt am Leben.

Es ist also doch die lebende Zelle färbbar.

Wenn man bedenkt, daß der Farbstoff die Zelle tötet, wenn er in gewisser genügender Menge sich mit dem Plasma verbunden hat, dann muß natürlich auch ein erstes Reaktionsstadium vorhanden sein, in welchem schon etwas Farbstoff, aber noch nicht genügend zur Abtötung, mit dem Plasmaeiweiß verbunden ist. Solche Stadien findet man vor, wenn man den Methylenblauversuch im Verhältnis 1:10000 anstellt, den Methylviolettversuch im Verhältnis 1:1000000 und nach einiger Zeit unterbricht.

Das Speicherungsvermögen der Hefe für Anilinfarben ist bedeutend, so daß man stark gefärbte Hefe mit allen möglichen Farbstoffen jener Gattung herstellen kann.

Die Speicherung findet noch bei großer Verdünnung statt.

Ein ähnliches Speicherungsvermögen besitzt nun die Hefe merkwürdigerweise auch für gewisse Schwermetallsalze, aber nicht für alle. Selbstverständlich stirbt sie dabei ab.

Versuch 6.

Etwas Hefe wurde in Silbernitratlösung von 1:10000 gebracht. Nach 36-stündigem Stehen im Dunkeln wurde die Hefe, mit Salzsäure und dann Schwefelwasserstoff behandelt, intensiv braun; die Lösung selbst gab keine Reaktion.

Versuch 7.

Etwas Hefe wurde in Silbernitratlösung von 1:100000 gebracht. Nach 36 Stunden im Dunkeln wurde die Hefe durch Behandlung mit Salzsäure und Schwefelwasserstoff dunkel gefärbt, während die Lösung keine Reaktion gab.

Versuch 8.

Etwas Hefe wurde in Silbernitratlösung von 1:1000000 gebracht. Nach viertägigem Aufenthalt im Dunkeln riefen Salzsäure und Schwefelwasserstoff etwas Schwärzung an der Hefe hervor. Die Lösung reagierte natürlich nicht.

Aus so enorm verdünnten Lösungen vermag also die Hefe das Silber aufzusammeln.

Aehnliche Resultate erhielt ich auch mit Kupfervitriollösung, während Versuche mit Sublimat mißlingen. Durch eine chemische



Reaktion (wahrscheinlich mit dem Plasmaeiweiß), die noch bei größter Verdünnung gelingt, werden Silber- und Kupfersalze aufgesammelt.

Unter den sonst bekannten chemisch-physiologischen Erscheinungen lassen sich hier am besten die beim Ernährungsvorgang der Pflanze zu Tage tretenden Vorgänge vergleichen. Um zu sehen, wie sehr die verschiedenen zur Ernährung dienenden Mineralstoffe einer Lösung in der lebenden Pflanze angehäuft, ja geradezu ausgesucht werden, braucht man nur die Aschenbestandteile des Fluß- und Seewassers mit denen der darin lebenden Wasserpflanzen zu vergleichen. Während u. a. das Meerwasser weniger als $\frac{1}{1.000.000}$ seines Gewichtes an Jod enthält, sind in der Asche von *Fucus digitatus* 5,37 Proz. Jod zu finden, und 100 Teile frischer Pflanzensubstanz hinterlassen beim Einäschern 3,57 Proz. Asche (nach Liebig). Ebenso konnte Forchhammer (Annal. Phys. und Chem. 1855. Bd. XCV) in dem aus 20 Pfund Seewasser gewonnenen Eisenoxyd nur eine Spur von Mangan nachweisen, während die Asche der im Meere gewachsenen *Padina paronia* 8,19 Proz. Mangan enthält (die trockene Pflanze liefert 34,75 Proz. Asche).

Ferner seien hier die von Gorup-Besanez an *Trapa natans* ausgeführten Aschenanalysen (der ganzen Pflanze) angeführt, daneben die Mineralanalyse des Wassers selbst:

| | Reinasche | K ₂ O | Na ₂ O | CaO | MgO | Fe ₂ O ₃ | SO ₂ | SiO ₂ | Cl |
|--|----------------------|------------------|-------------------|-------|-------|--------------------------------|-----------------|------------------|------|
| Asche von <i>Trapa</i> im Mai | 25,55 % | 6,89 | 1,41 | 14,91 | 7,56 | 29,62 | 2,73 | 28,66 | 0,65 |
| Asche von <i>Trapa</i> im Juni | 13,69 „ | 6,06 | 2,71 | 17,65 | 5,15 | 23,40 | 2,53 | 27,34 | 0,46 |
| Mineralbestandteile des Wassers . . . | 0,8044 ¹⁾ | 9,08 | 9,22 | 42,44 | 18,09 | 1,12 | 17,03 | 1,90 | 1,18 |

Man sieht, in welch verschiedenem Grade die einzelnen Mineralbestandteile des Wassers von der Wasserpflanze angehäuft werden, je nachdem sie eben dieselben für ihre Organe braucht.

Wenn man bedenkt, daß das Wasser nicht ganz 0,01 Proz. Mineralbestandteile (insgesamt) enthält, so wird man beim Durchmustern der Pflanzenanalyse unwillkürlich an die fabelhaften Verdünnungen erinnert, aus denen lebende Zellen noch Kupfer- oder Quecksilbersalze zu speichern vermögen. Besonders ist dies der Fall bezüglich der Phosphorsäure, von welcher in der Analysentabelle gar nichts steht, wiewohl jene zweifellos in der Pflanze in großer Menge enthalten war; sie muß natürlich auch im Wasser dagewesen sein, wenn auch in unnachweisbar geringer Menge. Die Phosphorsäure ist ja auch oft im Boden in so geringer Menge da, daß sie chemisch fast nicht mehr nachgewiesen wird. Trotzdem weiß die Pflanze sich derselben zu bemächtigen und in erheblicher Menge in sich aufzuspeichern. Offenbar erfolgt durch die Assimilation dieser Bestandteile ein Unlöslichwerden, wodurch dann immer neue kleine Quantitäten der betreffenden Stoffe in den lebenden Pflanzkörper hineindiosmieren.

Während nun beim Ernährungsvorgang unlösliche Stoffe von unschädlicher Beschaffenheit (Stärke, Cellulose) sich bilden, führt die oben beschriebene Reaktion mit Silbersalzen etc. zu einer tödlichen Veränderung des Plasmaeiweißes; dem Leben der Zellen ist damit ein Ziel gesetzt.

1) In 10000 Teilen Gesamtrückstand.

Es ist gewiß von Interesse, einmal die absoluten Mengen von schädlichen Stoffen festzustellen, welche nötig sind, um bestimmte Hefemengen oder sonstige andere aus lauter gleichartigen lebenden Zellen bestehende Organismenmassen abzutöten.

Untersuchungen hierüber sind geplant.

Autoreferat.

Bokorny, Th., Das Hefewachstum in mineralischer Nährlösung; Ausbleiben desselben bei Aussaat von Hefespuren. (Wettend. Zeitschr. f. Spir.-Ind. 1. Juli 1905.).

Verf. hat schon neulich darauf hingewiesen, daß die lebende Zelle ein gewisses Aufspeicherungsvermögen für Kupfersalze, ferner Quecksilber- und Silbersalze besitzt, welches auch bei unglaublichen Verdünnungen noch betätigt wird, indem die Reaktion, die mit der Bildung einer unlöslichen und nicht dosmierbaren Eiweiß-Metallverbindung endigt, noch bei Verdünnungen von 1:100 Mill. oder 1:1000 Mill. einsetzt.

Wie steht das nun mit obigem Titel in Zusammenhang?

Die mineralische Ernährung wurde bekanntlich zuerst von Naegeli ausprobiert; er fand, daß man den Stickstoff vollständig in Form von Ammoniaksalz zuführen könne, z. B. als weinsaures Ammoniak; die gewöhnlichen Mineralbestandteile wurden als Magnesiumsulfat, Calciumsulfat, Dinatriumphosphat, Kaliumchlorid usw. zugeführt.

Peptone sind freilich weit bessere Stickstoffquellen.

Nun kommen von verschiedenen Seiten Nachrichten von dem Mißlingen der Hefekultur in gezuckerten mineralischen Nährlösungen bei Aussaat von Hefespuren (nicht größeren Hefemengen).

Schon vor mehreren Jahren hat Wildiers beobachtet, daß in einer Lösung, welche nur mineralische Nahrung außer Zucker enthielt, keine Vermehrung der Hefe und dann natürlich auch keine Gärung eintrete. Er machte eine unbekannt Substanz, „Bios“, dafür verantwortlich, welche anwesend sein müsse, damit die Hefe wachsen könne. Warum soll dieselbe hier gefehlt haben? Warum greift man überhaupt zu so überflüssigen Hypothesen, wenn die Erklärung so nahe liegt?

Näher kam Windisch einer wirklichen Erklärung der inzwischen von verschiedenen Forschern nachgeprüften und als richtig erkannten auffallenden Tatsache, indem er auf die Verwendung des destillierten Wassers zu den Nährlösungen hinwies. Das aus kupfernen Blasen destillierte Wasser ist sehr schwach kupferhaltig; chemische Methoden genügen aber nicht leicht zum Nachweis desselben. Diese minimalen Spuren von Kupfer üben nach Naegeli „oligodynamische“ Wirkungen aus, d. h. Wirkungen, die zur Quantität des Giftes in einem bis jetzt nicht erklärbaren, also unbegreiflichen Kausalitätsverhältnis stehen.

Naegeli hat die Sache nicht weiter verfolgt; er hatte seine Beobachtungen an Algen (Spirogyren) gemacht, die sich eigentlich recht gut zu weiterem Studium geeignet hätten.

Nur die Herstellung genau abgemessener Lösungen von fabelhaft geringem Kupfergehalt unternahm er noch, um die Grenze der Wirksamkeit von Kupfersalzen festzustellen. Er fand, daß bei der Verdünnung 1:1000 Mill. noch eine Vergiftung von Spirogyren stattfindet!

An diese Beobachtung lehnte sich Windisch an und beseitigte damit die fabelhafte Substanz „Bios“.

Nun bleibt nur noch zu erklären, wie ein Gift in so fabelhaften Verdünnungen schädlich wirken könne. Bekanntlich verschwindet bei jedem, auch dem stärksten Gift die Wirkung, wenn man unter eine gewisse Dose herabgeht.

Es liegt nun recht nahe, anzunehmen, daß eine Aufsammlung des Giftes aus recht großen Verdünnungen stattfindet, ähnlich wie sie Pfeffer schon bei Farbstofflösungen beobachtet hat.

Daß die Kupfersalze von lebenden Zellen aufgespeichert werden, selbst bei sehr großer, chemisch nicht mehr faßbarer Verdünnung, davon konnte ich mich an Spirogyren (Algen) wiederholt überzeugen, als ich dieselben mit Kupfervitriollösungen von 1:1 Mill. bis 1:1000 Mill. zusammenbrachte. Nimmt man eine Spur Algen, so sterben dieselben nach einigen Tagen ab, indem sie das Gift bis zur tödlichen Menge binden und aufsammeln; es entsteht eine Eiweißverbindung. Man kann dann das Kupfer im Protoplasma mit Schwefelwasserstoff nachweisen.

Bei Anwendung von viel Algen reicht das Gift dieser so hoch verdünnten Auflösung nicht hin, um die Vergiftung zu bewirken: sie leben weiter.

Ganz ähnlich steht es mit der Hefe.

Wenn man eine Hefespur in eine mit destilliertem Wasser hergestellte mineralische gezuckerte Nährlösung versetzt, so wird die minimale dort vorhandene Kupfermenge in den Hefezellen durch das Eiweiß aufgespeichert bis zu einer tödlich oder doch schädlich wirkenden Menge.

Größere Hefemengen aber leiden durch jene minimale Spur von Kupfer nicht.

Der Grund, warum das nur bei mineralischen, nicht bei organischen Nährlösungen beobachtet wurde, liegt jedenfalls darin, daß die letzteren meist mit Pepton als Stickstoffquelle hergestellt werden, und das Pepton eben den geringen Kupfervorrat schon von vorneherein bindet.

Autoreferat.

Lange, H., Ueber die Verwendung der Ameisensäure in der Brennerei. (Oesterreichische Brennerei-Zeitung. Jahrg. III. No. 19.)

Verf. weist auf die Versuche der Anwendung der Ameisensäure in der Brennerei von Henneberg und Stiegler hin und gibt die folgenden Gesichtspunkte an: Ameisensäure regt die Gärtätigkeit der Hefe an, konserviert die Diastase des Malzes und wirkt vorzüglich gegen das Auftreten und die Vermehrung von Säurebakterien. Man wird infolgedessen weniger Malz bei Anwendung von Ameisensäure brauchen und es werden alle akuten Betriebsstörungen durch die Ameisensäure schnell und sicher beseitigt. Zum Schluß gibt Verf. noch Vorschriften über die Menge der in der Brennerei anzuwendenden Ameisensäure, sowie eine diesbezügliche Arbeitsvorschrift.

K a u s c h (Charlottenburg).

Krüger, Einfluß der Düngung und des Pflanzenwuchses auf Bodenbeschaffenheit und Bodenerschöpfung. (Landwirtschaftl. Jahrbücher. 1905. Heft 5.)

Verf. stellt verschiedene Versuche über Undurchlässigwerden und Verschlämmen des Bodens u. dergl. bei Chilesalpeterdüngung an, sowie über Zunahme der Löslichkeit der Kalk- und Magnesiaverbindungen im Boden bei Düngung mit schwefelsaurem Ammoniak, auf die hier nur verwiesen werden kann. Aus gewissen Versuchen, sowie aus Beobachtungen bei der Brache scheint ihm sodann hervorzugehen, daß die Tätigkeit von Mikroorganismen im Boden auf die Bodenbeschaffenheit bezüglich des Undurchlässigwerdens und Verschlämmens einen Einfluß ausübt.

E h r e n b e r g (Breslau).

Krüger, Ueber die Bedeutung der Nitrifikation für die Kulturpflanzen. (Landwirtschaftliche Jahrbücher. 1905. Heft 5.)

Verf. berührt einen Teil der bisherigen Feststellungen über Ammoniakaufnahme durch Kulturpflanzen und geht dann auf die von ihm in den Jahren 1899, 1903 und 1904 durchgeführten Versuche ein, die zahlenmäßig mitgeteilt und deren Ergebnisse besprochen werden. Die Schlußfolgerungen des Verf. sind etwa die folgenden:

1) Senf, Hafer und Gerste scheinen sich den beiden Stickstoffquellen — Ammoniak und Salpetersäure — gegenüber gleich zu verhalten, und zwar derartig, daß sich dieselben für die Ernährung als gleichwertig erweisen.

2) Die Kartoffel scheint das Ammoniak der Salpetersäure als Stickstoffquelle vorzuziehen, jedenfalls aber steht es der letztgenannten Stickstoffform in der Wirkung keineswegs nach.

3) Die Rübe nimmt ganz entschieden die Salpetersäure lieber als Stickstoffquelle auf und verwertet sie besser als das Ammoniak, besonders wird hier die Entwicklung des Wurzelkörpers durch die Gegenwart der Salpetersäure gefördert.

4) Wenn sich trotz der unter 1 und 2 angegebenen Folgerungen die Anwendung des Ammoniaks in der Praxis gegenüber derjenigen der Salpetersäure häufig als minder wirksam erweist, so ist dies wohl weniger auf den ungleichen physiologischen Wert der beiden Stickstoffquellen als vielmehr auf Umstände anderer Art, unter denen mikrobiologische Vorgänge im Boden wohl in erster Linie zu nennen sind, zurückzuführen.

5) Fast alle sterilen Gefäße geben bei Düngung mit löslichen Stickstoffverbindungen eine geringere Ernte oder unter Berücksichtigung der Erträge der Gefäße ohne Stickstoffdüngung keine entsprechende Mehrernte. Auch diese Erscheinung dürfte ihren Grund in mikrobiologischen Vorgängen haben.

6) Die Kulturpflanzen können also nicht allein Ammoniak als Stickstoffquelle verwerten, sondern sie sind mehr oder weniger auch im stande, diese Quelle in demselben Maße wie den Salpetersäurestickstoff auszunutzen. Die Nitrifikation ist daher kein so durchaus notwendiger Vorgang für unsere Kulturpflanzen, wie es für gewöhnlich angenommen wird. Die Maßnahmen in der Praxis, den Bodenstickstoff den Kulturpflanzen durch Bearbeitung u. s. w. nutzbar zu machen, erleiden durch vorstehende Schlüsse keine Aenderung, denn eine sachgemäße Bearbeitung, welche sich für den günstigen Verlauf der Nitrifikation im Boden als vorteilhaft erweist, ist auch für die Aufschließung der unlöslichen Stickstoffverbindungen erwünscht.

(Leider finden sich in der Arbeit weder die Ernten der Vegetationsgefäße in Einzelangaben noch bezüglich der für die Stickstoffbilanzen und die Beurteilung ihres wahrscheinlichen Fehlers so wichtigen Analysenmethoden, Titereinstellung u. s. w. irgendwelche Mitteilungen. Die für Aufstellung der Stickstoffbilanzen verwendeten unbepflanzten Gefäße sind mit den bepflanzten nicht ohne weiteres in Beziehung zu setzen, da sie teilweise erheblich höhere Mengen des Stickstoffdüngers erhalten haben, teilweise bereits nach Monatsfrist untersucht wurden, während die Vegetationsgefäße mit Pflanzen durchweg, und zwar meist erheblich länger den Versuchszwecken dienten.)

Ehrenberg (Breslau).

Miehe, H., Ueber die Selbsterhitzung des Heues. (Arbeiten der Deutschen Landwirtsch.-Gesellschaft. Heft 111. p. 76—91. Anhang zu F. Falke, Die Braunheubereitung etc. Berlin 1905.)

Zweite Abt. Bd. XVI.

16

Verf. hat das seit längerer Zeit in der physiologischen Literatur etwas in Vergessenheit geratene Problem, wie in festgepackten Pflanzenmassen die Erhitzung zu stande kommt, von neuem aufgegriffen. Seit den aus den Jahren 1888—1893 stammenden Arbeiten Ferdinand Cohns ist den rein physiologischem Gesichtspunkt kaum etwas Nennenswertes zur Klärung der Frage hinzugekommen, wenn man nicht hierher einige experimentelle Untersuchungen über die Tabakfermentation rechnen will. Aber auch die Cohnschen Untersuchungen sind wenig ausführlich gewesen, seine Mitteilungen beschränken sich auf wenige Seiten. Er fand, daß mit organischen Resten verunreinigte, nicht aber reine Baumwolle dann, wenn sie feucht in großer Menge zusammengepackt wird, nach 24—30 Stunden Temperaturen bis 67° C aufweist und nach zirka 6 Tagen wieder erkaltet. Er konstatierte ferner, daß sterilisierte Baumwolle sich nicht erhitzt, daß aber Selbserwärmung sofort einsetzt, wenn diese sterilisierte Baumwolle mit Wasser übergossen wurde, das aus früheren Baumwollabfällen ausgepreßt war. Als Erreger der Temperatursteigerung sah er einen Mikroccoccus an, den er in ungeheuren Mengen in dem Wasser fand, das er aus der erhitzten feuchten Baumwolle auspreßte. Auf ähnliche Weise hat er die Selbsterhitzung der Gerste untersucht, als deren Ursache er den *Aspergillus fumigatus* bezeichnet, der die ganze Gerstenmasse durchwuchert hatte.

Die Selbsterhitzung des Heues ist von ihm nicht behandelt worden. Man hat jedoch die Anschauungen Cohns auch auf diesen Prozeß übertragen. Eine ganz entgegengesetzte Ansicht haben Bockhout und de Vries neuerdings in dieser Zeitschrift vertreten (Bd. XII. p. 675. 1904). Sie verneinen rundweg die biologische Ursache der Selbsterhitzung und fassen sie ausschließlich als chemischen Vorgang auf, allerdings ohne einen befriedigenden Beweis dafür zu liefern.

Der einzige Weg, der diese Frage entscheiden kann, ist der schon von Cohn seinerzeit versuchte, nämlich Sterilisierung und Impfung. Verf. hatte sich also zunächst die Aufgabe gestellt, einwandfrei festzustellen, ob die Selbsterhitzung ein chemischer Prozeß oder ein durch die Tätigkeit von Organismen hervorgerufener vitaler sei. Daran schloß sich die weitere Aufgabe, das Heu mit bakteriologischen Methoden zu durchsuchen und seine Fermentationsflora kennen zu lernen.

Verf. bediente sich bei seinen Versuchen eines Apparates, der es ihm gestattete, das Heu zu sterilisieren und steril zu halten, die Erhitzung in kleinem Maßstabe aber in möglicher Intensität hervorzurufen und mit Reinkulturen zu impfen. Der Apparat, von dem eine Abbildung gegeben wird, war folgendermaßen beschaffen. Er bestand aus einem System von drei aus Drahtgaze gefertigten Cylindern. Der größte (etwa 75 cm hohe und 60 cm weite) Cylinder diente zur Aufnahme einer Wärmepackung, die in diesem Falle aus Watte bestand. Die beiden anderen Cylinder waren kleiner; der eine paßte in den anderen so hinein, daß an allen Seiten ein Zwischenraum von ca. 5 cm übrig blieb, der ebenfalls mit Watte ausgefüllt war. In diesen doppelwandigen Cylinder wurde das Heu fest hineingepackt und konnte in ihm bequem sterilisiert werden. Zur Beobachtung der Erhitzung wurde dieser Doppelcylinder in die Wärmepackung des größten oben erwähnten Cylinders hineingesetzt.

Verf. fand nun, daß in keinem Falle derart sterilisiertes Heu sich zu erhitzen im stande war, und zwar genügten schon 10 Minuten Sterilisierung bei 100°, um die Erhitzungsfähigkeit zu unterdrücken (vielleicht

kann dies sogar mit noch niedrigerer Temperatur erreicht werden). Wurde aber sterilisiertes Heu mit einer Flüssigkeit angefeuchtet, in der Heu, Erde etc. aufgeschwemmt war, so trat sofort Erhitzung ein und verlief normal.

Die Temperaturgrade, die Verf. in seinem Apparate erzielen konnte, standen gelegentlich den in großen Heu- und Mistmassen beobachteten nicht nach. Er konstatierte einmal 69° C. Das Temperaturmaximum wurde meist bei höherer Anfangstemperatur ($15-20^{\circ}$) in 24 Stunden erreicht, war sie niedriger (8°), so dauerte es erheblich länger, bis die Erwärmung in Gang kam.

Verf. hat mit diesen Versuchen bewiesen, daß in der Tat Mikroorganismen die Ursache der Erhitzung sein müssen, und wandte sich dann der Frage zu, diese aus dem bunten Gemenge der Heuflora herauszufangen und ihre thermogenen Eigenschaften nachzuweisen. Daß es sich um mehrere Arten handeln müsse, war von vornherein klar, da es ja von keinem Mikroorganismus bekannt ist, daß er innerhalb so weiter Temperaturgrade ($8-60^{\circ}$) zu wachsen vermag. Es wurden nun mittels eines einfachen Verfahrens bei verschiedenen Temperaturen Proben aus dem Heu herausgenommen unter Vermeidung von Sekundärinfektion und zur Herstellung von Agarplatten verwandt, die bei den entsprechenden Temperaturen bereitet wurden. Als Nährboden wurde eine nicht zu konzentrierte Abkochung von Heu, in 3 Proz. Agaragar suspendiert, benützt. Es wurden auf diese Weise eine Anzahl von Pilzen und Bakterien isoliert, die mit vorläufigen Namen belegt und flüchtig beschrieben werden. Die meisten konnten aber aus dem einen oder anderen Grunde für die normale Fermentation des Heues nicht in Betracht kommen, an einzelnen wurde direkt durch Impfung gezeigt, daß sie keine thermogene Befähigung besitzen, wie von dem Heubacillus sowie einem anderen coliartigen Bacillus. Erfolg hatte jedoch eine Impfung mit einem Pilz, den Verf. als *Oidium* anspricht. Verf. gibt in einer Anmerkung an, daß inzwischen die exquisit thermogenen Eigenschaften dieses *Oidiums* sichergestellt seien; Ref. muß jedoch hinzufügen, daß es ihm durch Einimpfung einer Reinkultur von *Oidium* in sterilisiertes Heu nur einmal geglückt ist, sofortige bis ca. 60° ansteigende Erwärmung zu erzielen. Der Pilz wächst etwas langsam auf dem Heuagar, gedeiht aber sehr gut auf apfelsäurehaltigem Substrat und auch auf dem üblichen Pepton-Zucker-Fleischbrüheagar. Er bildet keine Schimmelrasen, sondern flach anliegende strahlige Kolonien, die schließlich etwas mehlig aussehen. In Flüssigkeiten bildet er eine zarte Kahmhaut und untergetauchte flockige leicht zerreißen Massen. Zusammenhängende Mycelteile findet man im Mikroskop sehr selten, alles besteht aus einzelnen längeren cylindrischen Zellen und einer Unzahl elliptischer oder etwas eckiger Zellen. Besonders die Kahmhaut besteht ganz aus ihnen. Sein Temperaturmaximum ist ca. 35° .

Außer den die Anfangserwärmung bewirkenden Lebewesen muß es im sterilisierten Heu noch einen anderen Keim geben, der die Erwärmung zum Maximum bringt. Dies kann nur ein thermophiler Keim sein, dessen Sporen, wie Verf. auch experimentell für aus dem Heu isolierte thermophile Bakterien zeigte, durch das gewöhnliche Sterilisieren bis 100° überhaupt nicht abgetötet werden. Ein thermophiler Bacillus wurde nun mit Leichtigkeit aus $50^{\circ}-60^{\circ}$ heißem Heu isoliert, dessen Anwesenheit sich sogar schon mikroskopisch bemerklich machte. An allen Teilen des Heues hafteten nämlich massenhafte Stäbchen und be-

sonders große Mengen der Sporen, die auch in dem ausgedrückten Wasser auffielen; offenbar lagen die „Mikrokokken“ Cohns vor. Der Bacillus, der diese Sporen bildet, ist ein bewegliches Stäbchenbakterium mit den Temperaturgrenzen 40° und 70°. Er wird ebenfalls flüchtig geschildert. Er wurde in allen Proben in den Versuchen des Verf. gefunden, als der bei höheren Temperaturen bei weitem dominierende Keim. Der Versuch, die thermogene Befähigung dieses thermophilen Bakterium streng zu beweisen, machte Schwierigkeiten, da erstens das Heu im Autoklaven sterilisiert werden mußte (und ein solcher von genügenden Dimensionen stand nicht zur Verfügung), und zweitens eine Vorwärmung auf 40° nötig war, die ebenfalls bei den Dimensionen des Apparates sich praktisch nicht ausführen ließ. Ref. kann jedoch hier hinzufügen, daß er bis zu einem genügenden Grade von Zuverlässigkeit auch die thermogene Befähigung thermophiler Bakterien inzwischen gezeigt hat.

Aus allen diesen, noch nicht abgeschlossenen Versuchen geht also so viel hervor, daß die Selbsterhitzung des Heues zurückzuführen ist auf die Lebenstätigkeit von Organismen und daß die Hauptrolle einem thermophilen Bacillus zufällt. Es ist jedoch damit nicht gesagt, daß auch auf dem Felde in den sogenannten „Schweißdiemen“ der Prozeß genau der gleiche ist. Denn hier hat offenbar das noch lebende und nur angewelkte Gras selbst einen bedeutenden Anteil an der Erhitzung, wenigstens an der Vorwärmung. Die letzte Erwärmung ist wohl auch hier der Thermophilus, der sich allerdings unter natürlichen Bedingungen nicht in derselben kolossalen Quantität findet, ja gelegentlich überhaupt nicht nachweisbar wird. Verf. betont jedoch ganz kurz am Schluß, daß die Verhältnisse, die in seinen Versuchen obwalteten, direkt zu vergleichen sind mit denjenigen bei der Fermentation des Tabaks. In beiden Fällen handelt es sich um die Selbsterhitzung toter, angefeuchteter Pflanzenmassen. Verf. behält sich vor, auch die vielumstrittene Tabakfermentationsfrage, geleitet von seinen bei dem Studium der Heufermentation gewonnenen Erfahrungen, später in Angriff zu nehmen.

Verf. entwirft in den folgenden Sätzen ein Bild, wie sich ihm der Vorgang der Selbsterhitzung des Heues darstellt. „Auf dem etwas feuchten Heu entwickeln sich große Massen von Mikroorganismen, die sich von den Stoffen, die aus dem Heu hinausdiffundieren, ernähren. Sie atmen intensiv und, falls noch einzelne Teile des Heues leben, atmen diese auch. Die durch die Atmung erzeugte Wärme wird durch das Heu selbst zurückgehalten und aufgespeichert und die Temperatur steigt. Diese Steigerung wird immer intensiver, da mit der Temperaturerhöhung auch die Atmung und damit die Wärmeproduktion steigt, bis schließlich ein Wärmegrad erreicht ist, der auch von den widerstandsfähigsten Formen der Mikroorganismen nicht mehr ertragen wird. Die Temperatur sinkt infolgedessen wieder. Sie steigt, selbst wenn erträglichere Grade wieder erreicht werden, deshalb nicht wieder, weil die Anhäufung der Stoffwechselprodukte der Lebewesen ihre Entwicklung verhindern.“

Letzteres schließt Verf. daraus, daß ausgewaschenes fermentiertes Heu sich von neuem zu erhitzen vermag.

Erwähnt sei noch, daß mit der Selbsterhitzung auch eine partielle Selbststerilisierung verbunden ist. Denn es wurde beobachtet, daß sterile Heudekotte, wenn sie mit kleinen Mengen hochfermentierten Heues geimpft wurden, oft absolut steril blieben, wenn sie bei gewöhnlicher Bruttemperatur gehalten wurden.

Der Heubacillus vermochte, wie oben erwähnt wurde, eine Selbst-

erhitzung nicht zu bewirken, wohl aber *Aspergillus niger*, der allerdings für den normalen Prozeß nicht in Frage kommt. Die Erwärmung geht jedoch sehr viel langsamer vor sich und steigt nur bis 43°. Eine *Mucor*-Art, die Alkohol bildet (wahrscheinlich *Mucor racemosus*), ist für sich noch nicht vom Verf. geprüft worden. Sie wurde ebenfalls in den Proben neben dem *Oidium*, doch an Masse zurücktretend, angetroffen.

Aus einer verschimmelten, graulich aussehenden, widrig süßlich riechenden Heumasse wurden zwei weitere thermophile Lebewesen isoliert, und zwar eine *Streptothrix*-Art, welche auf Kartoffel kalkweise konsistente Auflagerungen bildet, und ein Schimmelpilz, welcher ebenfalls gut auf Kartoffel wächst und hier ein schönes, flaumiges, weißes, stellenweis etwas graugrünliches Mycelium bildet. Er ist durch große, einzeln an Seitenästen entwickelte Konidien ausgezeichnet. Autoreferat.

Bernard, N., *Nouvelles espèces d'endophytes d'Orchidées.* (Comptes Rendus de l'Acad. des sciences, Paris. T. CXL. 1905. p. 1272—1273.)

Verf. hat früher bereits gezeigt, daß bei der Keimung der Orchideensamen die Mitwirkung von endophytischen Pilzen nötig ist, welche mit diesen Pflanzen gemeinsam leben. Durch neue Versuche weist er nach, daß das Keimen gewisser Orchideen (*Odontoglossum*, *Phalaenopsis*, *Vanda*) von besonderen Endophyten mit üppigem Mycelium abhängt, denen diese speziell angepaßt sind; besonders nähert sich der aus den Wurzeln von *Phalaenopsis amabilis* erzielte Endophyt augenscheinlich der *Rhizoctonia*.

Wenn man die Wirkung dieser verschiedenen Pilze auf die Samenbeete von Hybriden von *Phalaenopsis* vergleicht, so ergibt sich eine normale deutlich ausgesprochene Symbiose mit dem Endophyten von *Phalaenopsis*; die Symbiose mit dem Pilz von *Odontoglossum* erwies sich als unmöglich.

Der Zustand der Symbiose ist in gewisser Hinsicht ein ernster und verlängerter Krankheitszustand, der eine Zwischenstufe darstellt zwischen dem Zustande von Pflanzen, die von einer schnell und tödlich verlaufenden Krankheit ergriffen werden und demjenigen von Pflanzen, welche sich vollkommener Immunität erfreuen. Houard (Paris).

Bruini, G., *Il bacillo del tifo e le piante.* (Giornale d. Società d'Igiene. Vol. XXVII. 1905. p. 256.)

Da man öfters vermutet hat, daß einige Pflanzen als Verbreitungsmittel für Typhus und andere Krankheiten dienen, züchtete Verf. Erbsen, Lattich, Mais und Gartenbohnen in mit *Bac. tetragenus*, *pyocyaneus*, *typhi* und einer von Volpino isolierten Bodenbakterie geimpften Nährlösungen. Die genannten Bakterien vermögen aber nicht in die Pflanzen einzudringen. Sogar geißeltragende Formen können in Stengel und Blätter nicht aufsteigen. Das führt Verf. auf den Mangel an celluloseverdauenden Enzymen und auf die rasche Callusbildung in den verletzten Wurzeln zurück. Ueberdies enthält der Saft aus jenen Pflanzen, auch nicht einmal aus ihren Wurzeln, keine für Bakterien schädlichen, wohl aber oft negativ chemotaktisch wirkenden Stoffe. Einige Säfte entbehren auch jeder chemotaktischen Wirkung. Bacillen finden sich nur auf der Oberfläche, selten in der Atemhöhle der Spaltöffnungen

vor. Sie gelangen dorthin durch die Bewässerung, die Düngung, den Wind, die Regenbespritzungen oder schließlich beim Hervorbrechen der Keimpflanze aus dem Boden.

Pantanelli (Rom).

Montemartini, L., Note di fisiopatologia vegetale. (Separat aus Atti d. Istituto Botanico die Pavia. [2]. Vol. IX. 1905. 59 pp.)

Verf. hat bei 15 Fällen von parasitischen Angriffen auf Laubblättern deren CO_2 -Assimilation, Atmung, Transpiration, Wasser- und Salzaufnahme mit den Leistungen der entsprechenden gesunden Blätter verglichen. Es handelte sich um *Portulaca oleracea* mit *Cystopus Portulacae*; *Vitis vinifera* mit *Plasmopara viticola*; *Clematis Vitalba* mit *Aecidium Clematidis*; *Viola odorata* mit *Aecidium Violae*; dieselbe mit *Puccinia Violae*; *Althaea rosea* mit *Puccinia Malvacearum*; Rost auf Roggen, Weizen und Hafer; *Rosa* sp. (verschiedene Spielarten) mit *Phragmidium subcorticium*; *Persica vulgaris* (verschiedene Spielarten) mit *Exoascus deformans*; *Evonymus japonicus* mit *Oidium leucoconium*; *Cydonia japonica* mit *Oidium Cydoniae*; *Viola odorata* mit *Alternaria Violae*; *Rosa* sp. (v. S.) mit *Marrisonia Rosae*; *Evonymus japonicus* mit *Chionaspis Evonymi*; *Vitis vinifera* mit *Phytoptus Vitis*.

Aus den zahlreichen, sorgfältig ausgeführten Versuchen ergibt sich, daß die untersuchten Parasiten die genannten Leistungen der Blätter in gewissen Entwicklungszuständen beschleunigen, in anderen hemmen. Ein solcher Einfluß betrifft vor allem die Atmung. Die CO_2 -Assimilation kann zuweilen neben einer kräftigen Atmungssteigerung erniedrigt werden. Die beschleunigende Wirkung ist bei *Aecidium*, im allgemeinen bei Uredineen stärker. Die Transpiration ist auf befallenen Organen durchgehends kräftiger als auf gesunden (nicht ganz eindeutig verhält es sich bei *Chionaspis* auf *Evonymus*). Die Fähigkeit der Blattzellen, die Transpiration mit der Beleuchtung zu steigern, wird bald gefördert, bald gehemmt. Meistens nimmt sie auch zu, wenn die CO_2 -Assimilation beschleunigt wird. Manche Parasiten haben keine direkte, regelmäßige und konstante Wirkung auf die Wasser- und Salzaufnahme durch das Blatt; vielmehr steht diese Aufnahme mit der Transpiration und CO_2 -Assimilation in Beziehung. Solche Reizwirkungen dürften von toxinartigen Ausscheidungen des Schmarotzers herrühren.

Pantanelli (Rom).

Salmon, Ernest, S., The Erysiphaceae of Japan. II. (Annales mycologici. Vol. III. 1905. No. 3. p. 241—256.)

In vorliegender Abhandlung sowie in der Arbeit des Verf.: A monograph of the Erysiphaceae in Mem. Torrey Bot. Club, Vol. IX, 1900, sind unsere Kenntnisse über die in Japan lebenden Erysiphaceen erschöpfend dargelegt. In der letztgenannten Arbeit wurden für Japan als neu nachgewiesen: *Uncinula Clintonii* Peck und *Unc. polychaeta* (Berk. et Curt.), in der vorliegenden Abhandlung *Unc. geniculata* Ger., *Sphaerotheca lanestris* Harkn. und *Microsphaera Euphorbiae* (Peck) Berk et Curt. — *Uncinula geniculata* tritt in Nordamerika auf der dort endemischen Pflanze *Morus rubra* auf, in Japan aber auf der für Japan endemischen *Styrax Obassia* auf. Zur Erklärung dieser merkwürdigen geographischen Verbreitung kann man vielleicht annehmen, daß *Morus rubra* mit dem Pilze nach Japan eingeführt und hier die andere Wirtspflanze

befallen hat. *Sphaerotheca Kusanoi* P. Henn. et Shirai ist mit *Sph. lanestris* Harkn., *Sph. Phtheirospermi* P. Henn. et Shirai ist mit *Sph. Humuli* (DC.) Burr. var. *fuliginea* (Schlechth.) Salm und *Erisyphe Pisi* DC. var. *Desmodii* P. Henn. mit *Er. Polygoni* DC. identisch. — Von einer größeren Zahl von Arten werden ergänzende Diagnosen und kritische Erläuterungen gegeben. — Die Zahl aller aus Japan bisher bekannt gewordenen Arten beläuft sich nach kritischer Sichtung auf 27, welche in 7 Klassen untergebracht werden. Die 1. Klasse enthält kosmopolitische Arten (9), die 2. Klasse Arten, die in Europa und Nordamerika, außerdem aber nur in Japan gefunden wurden (3), die 3. Klasse Arten der alten Welt (3), die 4. Klasse amerikanische Arten (5), die 5. Klasse australische Species (1), die 6. Klasse eine chinesische Art (*Uncinula Delavayi*), die 7. Klasse endemische Arten (5 an der Zahl). Verf. gibt eine alphabetische Liste der bisher in Japan gefundenen Arten und Formen nebst den genauen Fundorten und den Wirtspflanzen. Das Material liegt in Kew Herbar. Beigefügt wird ein Verzeichnis der Wirtspflanzen mit den sie befallenden Pilzen. Matouschek (Reichenberg).

Magnus, Paul, Ueber die Gattung, zu der *Rhizophydium Dicksonii* Wright gehört. (Hedwigia. Bd. XLIV. 1905. Heft 6. p. 347—349. Mit 3 Textfig.)

Die in den Gliederzellen von *Ectocarpus granulosus* und *E. crinitus* von E. P. Wright entdeckte parasitische Chytridiacee, *Rhizophydium Dicksonii* Wright, hat keinerlei Rhizoïden (intramatrikales Mycel) und ihr ganzer Vegetationskörper verwandelt sich holokarpisch zum Zoosporangium. Die Membranzelle der Wirtszelle wird auseinandergesprenzt und öffnet sich dann mit 1 oder 2 ein wenig vorgezogenen Austrittsöffnungen. Daher stellt Verf. diesen Pilz nicht zur Gattung *Olpidium*, sondern spricht ihn für den Vertreter einer neuen Gattung an, die er *Eurychasma* nennt, mit der einzigen Art: *Eur. Dicksonii* (Wright) P. Magn. Sie kommt auf den Küsten Islands, Schottlands, Norwegens und im Hafen von Triest vor. An letzterem Orte könnte die Biologie und die Entwicklung des äußerst interessanten Pilzes leicht genauer verfolgt werden.

Matouschek (Reichenberg).

Magnus, Paul, Zwei parasitische *Harpographium*-Arten und der Zusammenhang einiger Stilbeeen mit *Ovularia* oder *Ramularia*. (Hedwigia. Bd. XLIV. 1905. Heft 6. p. 371—375. Mit 5 Textabb.)

Beschreibung einer neuen Art: *Harpographium Volkartianum* P. Magn., die auf lebenden Blättern von *Potentilla aurea* in lokalisierten Flecken lebt. Letztere sind anfangs rötlich, später grau mit breitem roten Rande und treten sowohl auf der Blattfläche als auch auf dem Blattrande auf. Aus den grauen Flecken der Blattunterseite treten die Säulchen des Pilzes in der Mitte der Flecken auf. Das einzelne Säulchen haftet mit einer kugeligen Anschwellung im Gewebe des Blattes; es wird mit den Sterigmen und Konidien genau beschrieben. Der Pilz kommt in den Graubündener Alpen vor und scheint ein charakteristischer Alpenpilz zu sein. *Stysanus pallescens* Fckl. verhält sich in seinem morphologischen Aufbau genau so, daher muß dieser Pilz *Harpographium pallescens* (Fckl.) P. Magn. heißen; synonym damit ist *Ovularia Stellariae* (Rabenh.) Sacc. Verf. beschäftigt sich

noch mit *Isariopsis pusilla* Fresen., welche Art Verf. oft auf *Cerastium* beobachtet hat und bei der er die Auflösung der Coremien in einzelnen Sterigmen, d. h. in *Ramularia*-Rasen beobachtet hat. In einer Nachschrift gibt Verf. an, daß die zwei eben erwähnten Pilze mit mehr Recht zu *Graphium* zu ziehen sind, wozu auch das *Graphium Geranii* Vogliono 1904 gehört. Alle drei Arten sind sicher nahe verwandt und es wird sich daher empfehlen, die Saccardosche Gattung *Harpographium* mit sichelförmigen Konidien von den drei behandelten Arten, die oblonge Konidien besitzen, generisch abzutrennen.
Matouschek (Reichenberg).

Kusano, S., New species of Exoasceae. (Botan. Magazine, Tokyo. Vol. XIX. No. 216. 5 Seiten des Separatabdruckes und 1 Tafel.)

Beschrieben und abgebildet werden folgende neue Arten: *Traphrina truncicola* n. sp. auf *Prunus incisa* Thbg., *T. piri* n. sp. auf *Pirus Miyabei* Sarg., *T. japonica* n. sp. auf *Alnus japonica* S. et Z.
Matouschek (Reichenberg).

Voglino, P., Intorno a lo sviluppo e parassitismo delle *Septoria graminum* Desm. e *S. glumarum* Pass. (Annali d. Accademia die Agricoltura di Torino. Vol. XLVI. 1903. p. 259—282. [Erschienen 1904.] Mit 7 Textfiguren.)

Im Frühling 1903 begünstigte die feuchte Witterung die Entwicklung mancher, zum Teil neuer oder seltener Krankheiten. Sehr schwer war die Weizeninfektion in Piemont durch *Septoria graminum* und *tritici*. Aus geeigneten Kulturen, Keimungs- und Impfungsversuchen hat sich ergeben, daß *S. graminum* mit *Leptosphaeria tritici* (Gib.) Pass. verbunden ist. Diese Perithezien tragende Form ist aber für die Verbreitung der Pyknidien tragenden Form (*S. gr.*) nicht notwendig, weil die im Pyknidium verbleibenden Pyknidiosporen ihre Keimfähigkeit 9 Monate lang erhalten.

Im oberen Halmteil und auf den verbräunten Ähren fand man häufig *S. glumarum* Pass. Verf. beschreibt eingehend die vom Pilze bewirkten anatomischen Veränderungen und seine Entwicklung im Pflanzenkörper. Er fühlt sich berechtigt, *S. gl.* mit *Macrophoma* (*Cylindrophoma*) *Hennebergii* (Kühne) Berl. et Vogl. zu identifizieren, denn die Pyknidiosporen bleiben eine gewisse Zeit kurz und die Querwände treten spät auf. Diese Gebilde hat Kühne möglicherweise einem *Phoma* angesprochen. Sie keimen leicht in Wasser, Dekokten und Gallerten. Auf Gelatine ähneln die Ascosporen den von *Sphaerella exitialis* Morini. Unterschiede liegen aber darin, daß *S. gl.* selten Perithezien, meistens Konidien und Pyknidien, während *Sphaer. exitialis* nur Konidien und Perithezien ausbildet; außerdem erscheint die Infektion mit *Sphaer. exitialis* nicht so bedenklich. Indessen scheint ein Zusammenhang nicht zu fehlen, denn aus den Pyknidiosporen gehen nur Perithezien, aus den Ascosporen nur Pyknidien hervor. Die Perithezialform ist aber zur Verbreitung nicht notwendig, weil die Pyknidiosporen sich mehrere Monate keimfähig halten.

Düngung mit NaNO_3 im Verhältnis 300 kg pro ha begünstigte die Infektion mit *S. glumarum*, weil die Parenchymbildung und die Anzahl der Spaltöffnungen pro qcm gesteigert wurde. Dagegen begünstigte eine Düngung mit Thomasschlacke (10 Dz. pro ha) und Ammonsulfat (50 kg pro ha) die Bildung der mechanischen Gewebe und ließ die Infektion

nur begrenzt auftreten. Ferner hat Verf. Impfungsversuche an in Knopschen Lösungen verschiedener Zusammensetzung wachsenden Pflanzen ausgeführt. Die Infektion war nur bei nitratreichen Kulturen erfolgreich.

Verf. empfiehlt als Gegenmittel Düngung des Weizens mit Ammoniaksalzen anstatt mit Nitraten, reiche Phosphatdüngung und Kultur jener Weizenrassen, welche normal viel mechanisches Gewebe ausbilden.

Pantanelli (Rom).

Hecke, Ludwig, Zur Theorie der Blüteninfektion des Getreides durch Flugbrand. (Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft. Bd. XXIII. 1905. Heft 6. p. 248—350. Mit 1 Tafel.)

1) Es findet sicher auch eine Infektion statt, bei welcher Flugbrandsporen bereits in der Blüte zur Keimung gelangen und den Fruchtknoten infizieren, so daß im nächsten Jahre aus solchen Früchten ohne Außeninfektion brandige Pflanzen entstehen. Vielleicht spielt für gewisse Brandarten diese Art der Infektion eine weit größere Rolle als die Infektion der Keimpflanzen.

2) Es muß diese neue Theorie der Blüteninfektion eine streng anatomische Begründung erfahren, d. h. es muß der anatomische Nachweis des Pilzes, von der Infektion angefangen, bis zu seinem Erscheinen in der jungen Pflanze gefordert werden, so namentlich das Eindringen des Pilzes in den jungen Fruchtknoten und dessen Ueberwinterung im Samen. Verf. arbeitet auf diesem Gebiete und hat in vorliegender Abhandlung mit Sicherheit nachgewiesen, daß sich der Brandpilz infolge der Blüteninfektion im Embryo des ungekeimten Saatkornes in Form von Mycelium vorfindet. Verf. gibt die Methoden der Untersuchung an und bildet die Präparate ab; als Versuchsmaterial wählte er diesmal nur Gerste, die mit *Ustilago Hordei* infiziert war. Die größte Menge Mycel ist im Scutellum vorhanden, wo sich auch Mycelnester zeigen; fädig entwickeltes Mycel findet man namentlich in dem Vegetationskegel an der Grenze der Blattanlage. Ob der Pilz auch im Endosperm vorkommt, ist vorläufig fraglich. Auf die weiteren abschließenden Untersuchungen darf man mit Recht gespannt sein.

3) Im Samen ist also ein Krankheitskeim vorhanden. Solche Fälle sind selten. Beim *Lolium*-Pilz, der aber kein eigentlicher Krankheitserreger ist, liegt ein analoger Fall vor. Durch die vorliegende Arbeit findet die Ansicht, das der *Lolium*-Pilz ein Brandpilz ist, eine Stütze.

Matouschek (Reichenberg).

Schellenberg, H. C., Das Absterben der sibirischen Tanne auf dem Adlisberg. (Mitteilungen der schweizerischen Zentralanstalt für das forstl. Versuchswesen. Bd. VIII. Heft 3. p. 269—286, mit 2 Tafeln.)

Seit einigen Jahren beobachtete Verf. in den Waldungen des Adlisbergs ein Eingehen der dort gepflanzten ca. 30jährigen sibirischen Tannen. Er führt die Erscheinung auf die Wirkung eines Pilzes zurück, *Dasy-scypha caliciformis* Willd., welcher auf der Weißtanne sehr häufig ist, aber kaum jemals einen parasitären Charakter hat.

An den erkrankten sibirischen Tannen treten die Becherfrüchte des Pilzes zuerst an den unterdrückten Zweigen auf. Von hier aus greift der Pilz auf den Stamm über, wo er die Rinde in größerer Ausdehnung zerstört. Besonders die untere Kronenregion ist dem Angriff des Pilzes ausgesetzt. Die Tannen werden schließlich gipfeldürr.

Das Mycel verbreitet sich in der Rinde intracellular unter Durchbohrung der Wände an den Poren, seltener intercellular, Bastfasern und Steinzellen bleiben verschont. Auch in die sekundäre Rinde dringt der Pilz vor bis an das Cambium, welches dadurch gleichfalls getötet wird; hingegen wurden im Holz keine Mycelfäden beobachtet (nicht einmal in den Markstrahlen).

Außer den Apothecien bildet der Pilz auch Konidienlager. Diese unterscheiden sich aber durch die Größe der Konidien (sowie durch den Mangel eines Stiels) von *Phoma abietina* (= *Fusicoccum abietinum* Prill. et Delacr.), welche von Rehm als Nebenfruchtform von *D. calyciformis* angesehen worden war.

Die Apothecien treten an den gleichen Stellen auf, welche vorher Konidienlager trugen. Die Konidien keimen schwer, die Ascosporen hingegen sehr leicht, besonders in zuckerhaltigen Nährlösungen. Die vom Verf. angestellten Infektionsversuche (mit Ascosporen, welche von *A. sibirica* sowie mit solchen, welche von *A. pectinata* stammten), gelangen zum Teil. Dies beweist, daß der auf *A. sibirica* wachsende Pilz wirklich identisch ist mit dem auf *A. pectinata*.

Neger (Tharandt).

Peglion, V., Sulla presenza in Italia del *Cystopus Lepigoni*. (Atti dell' Accad. d. Scienze, Med. e Nat. de Ferrara. Vol. LXXIV. Fasc 1—2.)

Verf. weist das Vorkommen des *Cystopus Lepigoni* in der Nähe Ferraras nach. Gelegentlich dieser Feststellung weist Verf., als nicht uninteressant, auf die Aehnlichkeit des Myceliums dieser Art und desjenigen des *Cystopus candidus* hin. Auch beim *C. Lepigoni* sendet das verzweigte Mycelium mit intercellularem Verlauf sphäroidale, mehr oder weniger langgestielte Haustorien aus, die in das Innere der sie fassenden Zellen eindringen. Die Bildung der Oogonien geschieht durch Endschwellung der Mycelienhyphen oder durch intercalare Schwellung. Die Antheridien sind fast cylindrisch oder keulenförmig. Nach vollendeter Befruchtung bleibt das auf die einzige Vorwand beschränkte Antheridium, wenn die Oospore bereits gebildet ist und ihr charakteristisches Episporium erhalten hat, an der oogonalen Wand haften.

Bertarelli (Turin).

Peglion, V., Alterazioni delle castagne causate da *Penicillium glaucum*. (Rendiconti d. Accademia d. Lincei in Roma. [CCCII]. Serie 5. Vol. XIV. II. Sem. 1905. p. 45.)

Verschimmelte Kastanienfrüchte geben die Phenolreaktion nach Gosio, welche bei saprophytischen Pinselschimmeln nicht auftritt. Verf. betrachtet die Giftigkeit der auf Kastanien schmarotzenden *Penicillien* eher als eine Anpassung an den Parasitismus als den Ausdruck einer Rasse-eigenschaft; die Giftigkeit dürfte bei saprophytischem Leben wieder verschwinden. Jedenfalls tragen sehr wahrscheinlich auch verschimmelte Kastanien zur Verbreitung der Pellagra bei.

Pantanelli (Rom).

Peglion, V., La rogna o tubercolosi del Nerium Oleander. (Rendiconti d. Accademia d. Lincei in Roma. [CCCII]. Serie 5. Vol. XIV. II. Sem. 1905. p. 462.)

Bei Mentone und Montecarlo werden die Oleander von einer Art Tuberkelkrankheit befallen, welche mit der bekannten Tuberkulose des Oelbaumes verwandt sein dürfte. Die Blattknötchen sind fleischig, durch

tiefe Rißbildung rauh; die Zweigtuberkel verhindern das Wachstum der Aeste. Die Folge ist, daß die Blütenbildung unregelmäßig fortschreitet, die Blüten abfallen und die Samenanlagen oft zu großen, samenfreien, gallenartigen Gebilden auswachsen. Die Struktur des Tuberkels erinnert an die Verhältnisse beim Oelbaume. Die hyperplastischen Gewebe zeigen zahlreiche Hohlräume, wo sich gelbliche Bakterienzoogloen anhäufen. Auf neutraler, mit Ammonphosphat versetzter Glukosebouillongelatine konnte Verf. den fraglichen *Bacillus* reinzüchten, der schmutzig-weißliche bis gelbe Kolonien bildet; auf Rübenschnitteln entwickelt er sich zu einer gelblichen, beim Altern hellgelb werdenden Schmiere. Verf. hält dieses Bakterium mit dem neulich von R. Schiff-Giorgini untersuchten für identisch.

Pantanelli (Rom).

Peglion, V., Intorno alla nebbia o mal bianco dell' *Evonymus japonicus*. (Rendiconti d. Accademia d. Lincei in Roma. [CCCII], [Ser. 5.] Vol. XIV. 1905. I. Sem. p. 232.)

Von einem neuen Parasiten auf *Evonymus* ist nur die Konidienform bekannt (*Oidium* E. j.). Er greift sämtliche grüne Teile der Wirtspflanze an; Blätter, Knospen, Blütenstände weisen dann breite, mehlig-flechte auf; der geringste Stoß genügt, um einen Konidienregen zu bewirken. Nach einigen Tagen fallen die Blätter ab. Als Gegenmittel kann man nur ein tüchtiges Schwefeln empfehlen. Die Haustorien des Pilzes dringen in die Epidermiszellen ein, wo sie überwintern und den einzig bekannten Dauerzustand dieses Parasiten bilden.

Pantanelli (Rom).

Petri, L., Di alcuni caratteri culturali della *Stictis Panizzei* De Not. (Rendiconti d. Accademia d. Lincei in Roma. [CCCII], [Ser. 5.] Vol. XIV. 1905. I. Sem. p. 637.)

Das Mycel des angeblichen (siehe dieses Centralbl. Bd. XIII. p. 470) Erregers der „Brusca“ des Oelbaumes bildet Pyknidien bereits nach 12 Tagen auf glukosehaltigen Böden, insbesondere auf Agar mit Oelbaumblätterrauszug 1 Proz. Dextrose. Beinahe das ganze Mycel wird zur Bildung eines weißlichen, wachsartigen Stroma verbraucht. Die Pyknidien entstehen zunächst auf der Oberfläche, dann auch innerhalb des Nährbodens. Sporen cylindrisch, hyalin, stäbchenförmig, zuweilen etwas gekrümmt. Sporenträger selten verzweigt. Vielleicht gehört der Pilz der Gattung *Cytospora* Ehr. an. Obwohl die Pyknidienform das gewöhnliche Verbreitungsmittel darstellt, kann man auf dem genannten Agar ohne Glukosezusatz Perithezien mit Asci aus dem Mycel direkt entstehen lassen.

Pantanelli (Rom).

Petri, L., Ulteriori ricerche sopra i bacterii che si trovano nell' intestino della larva della mosca olearia. (Rendiconti d. Accademia d. Lincei. [CCCII]. Serie 5. Vol. XIV. I. Sem. 1905. p. 399.)

Die aus den Darmsäcken der Oelbaumfliegenlarve isolierten Bakterien (siehe dies. Centralbl. Vol. XIV. p. 533) sind aërob, geben auf Peptonagar hellgelbe Kolonien, wo sich bald Ringe aus gekapselten, unbeweglichen, abwechselnd mit kapselfreien, beweglichen Elementen differenzieren. Gelatine wird verflüssigt. Der *Bacillus* ist kurz, coccusähnlich ($1-1,5 \mu \times 0,5-0,75 \mu$); auf fetthaltigen Böden wird er länglich, ebenso in der Larve. Die beweglichen Elemente besitzen 5 peritriche Geißeln. Der gelbe Farbstoff sitzt in der Zellwand und kann nicht ex-

trahiert werden. Dieses Bakterium entspricht dem vom Verf. bereits näher untersuchten *Bacillus capsulatus Trifolii* (siehe dies. Centralbl. Bd. XI. p. 347).

Häufig im Humusboden, kommt dieser *Bacillus* nie im Fruchtfleische der Olive vor, bildet wohl aber etwa ein Zehntel des Körpervolumens bei der Larve der Oelbaumfliege. Hier begegnet er nie einer Bakteriolyse, verschwindet doch aber plötzlich kurz vor der Puppenbildung.

Aus Kohlenhydraten bildet er viel Oxalsäure, reduziert den Lackmus nicht, erzeugt kein Indol, säuert energisch an, scheidet auf neutral erhaltenem Boden Spuren von Ammoniak aus und bildet während der Kapselbildung einen pektin- bis mucinähnlichen Schleim. Er erzeugt auch eine Protease und eine Kasease.

Am wichtigsten ist seine Wirkung auf Olivenöl, das unter Bildung grober, zu Boden sinkender und die Bakterien selbst mitreißender Tropfen emulgiert wird. Mittlerweile steigt die gebildete Fettsäure über die verbrauchte Fettmenge, was mit der Ausscheidung einer Lipase zusammenhängt. Die Wirkungskurve dieser Lipase in Beziehung zur Temperatur ähnelt den bekannten Hanriotschen Kurven für tierische Lipasen. In alten Kulturen verschwindet die hydrolytische, es bleibt aber die emulgierende Wirkung tätig. Die Autolyse ergibt schwaches lipolytisches Vermögen. Die Gegenwart eines Ektoenzymes wurde auch durch die Eijkman'sche Methode nachgewiesen. Möglicherweise hilft dieses Bakterium der Larve bei der Verdauung des massenhaft aufgenommenen Oeles.
Pantaneli (Rom).

Stift, A., Auftreten der gemeinen Seide auf Zuckerrüben.
(Wiener Landwirtschaftliche Zeitung. 1905. p. 843.)

Verf. hat im Jahre 1901 auf einem Rübenfelde in Westungarn das Auftreten der gemeinen Seide (*Cuscuta europaea* L.) beobachtet und dieses Auftreten nach Erwägung aller Umstände und nach der vorliegenden Literatur als neu bezeichnet. Diejenigen Rüben, deren Blattapparat infolge der Umhüllung durch die Seide vollständig abgestorben waren, blieben erheblich in der Entwicklung (11—240 g) und im Zuckergehalt zurück (7,4—10,4 Proz.). Das betreffende Feld wurde im Jahre 1902 mit Gerste, 1903 mit Wicke, 1904 mit Weizen und 1905 wieder mit Rübe bestellt. Die Zuckerrüben entwickelten sich anfangs ganz normal, bis plötzlich Mitte Juni die Seide wieder zum Vorschein kam und eine Reihe von Rüben befiel. Die befallenen Rüben wurden ausgerissen, um dadurch, so gut es ging, die Seide auszurotten. Dies schien auch gelungen zu sein, da bis in die zweite Hälfte des September von der Seide nichts zu sehen war. Zu dieser Zeit trat sie aber wieder auf, und zwar nicht nur auf dem ursprünglichen Verbreitungsgebiet, sondern auch auf anderen Rübenfeldern der betreffenden Gegend. Wie im Jahre 1901, so war auch im Jahre 1905 das Umsichgreifen der Seide von deutlichem Einfluß auf die Entwicklung der Rübenwurzel in puncto Gewicht und Zuckergehalt. Aus den bisherigen Erfahrungen und Untersuchungen geht unzweifelhaft hervor, daß das Auftreten der Seide wohl im stande ist, die entsprechende Entwicklung der Rübe zu hemmen und bei stärkerem Auftreten einen ganz beachtenswerten Schaden anzurichten, der sich sowohl in einer geringeren Ausbildung des Wurzelkörpers als auch in einer bedeutenden Verringerung des Zuckergehaltes äußern kann. Die bisherigen Untersuchungen haben weiter gelehrt, daß die Seide auch bei der Zuckerrübe zu einem unangenehmen Parasiten werden kann, der sich nicht auf seinen Ursprungsort beschränkt, sondern

immer weiter greift und örtlich auseinanderliegende Felder zu ver-
seuchen im stande ist. Zur Bekämpfung ist es am vorteilhaftesten, die
befallenen Rüben radikal vom Felde zu entfernen, da eine Beseitigung
der Blätter allein nichts nützt. Autoreferat.

Boutan, L., Un ennemi du café au Tonkin: le *Xylotrechus*
du bambou sec. (Comptes Rendus de l'Acad. des sciences, Paris.
T. CXL. 1905. p. 1654—1656.)

Die Kolonisten in Tonkin hatten beobachtet, daß die Nachbarschaft
des Bambus dem gedeihlichen Fortkommen der Kaffeebäume schadete
und daß die durch *Xylotrechus* hervorgerufenen Verwüstungen unter
diesen Umständen noch beträchtlicher waren. Verf. war in der Lage,
den Entwicklungskreis des *Xylotrechus* vom Bambus vollständig
zu verfolgen; derselbe unterscheidet sich merklich von dem des *X. quad-*
rupes. Houard (Paris).

Appel und Börner, Ueber Zerstörung der Kartoffeln durch
Milben. (Arbeiten aus der biologischen Abteilung für Land- und
Forstwirtschaft am Kais. Gesundheitsamte. Bd. IV. Heft 5.)

Während das Auftreten von Milben an kranken und faulen Kar-
toffeln bisher meist keine besondere Beachtung seitens der Pflanzen-
pathologen fand und die Annahme vorherrschte, daß diese Ansiedelung
lediglich als eine Folge der durch die Krankheit verursachten Substrats-
veränderung anzusehen sei, konnten die Verff. auf experimentellem Wege
für die Milbe *Rhizoglyphus echinopus* feststellen, daß sie das ge-
sunde Gewebe der Kartoffeln anzugreifen im stande ist und so bei der
Zerstörung der Kartoffel eine bis jetzt nicht erkannte Rolle zu spielen
vermag. Sehr häufig nehmen die Fraßstellen der Milben ihren Ausgang
von Schorfstellen, auch kleine Verletzungen dienen ihnen als willkommene
Angriffspunkte. Zum mindesten bei den zartschaligen Sorten unterliegt
es aber keinem Zweifel, daß auch die Korkschale keinen genügenden
Widerstand gegen die Milben bietet.

Der Schaden, den die Milben anrichten, ist ein größerer, als man
bei der Betrachtung zunächst anzunehmen geneigt ist, da die Fraßstellen
der Tiere eine Einfallspforte für Bakterienkrankheiten aller Art sein
können, was sich zumal in feuchten Jahren bemerkbar machen wird.
Außerdem übertragen die Milben selbständig leicht die Bakterien.

Ehrenberg (Breslau).

Houard, C., Variation des caractères histologiques des
feuilles dans les galles du *Juniperus Oxycedrus* L. du
Midi de la France et de l'Algérie. (Comptes Rendus de l'Acad.
des sciences, Paris. T. CXL. 1905. p. 1412—1414.)

Verf. hatte bereits in einer früheren Mitteilung gezeigt, wie die
anormalen Blätter der alpinen Wachholdersräucher gegen das trockene,
kalte Hochalpenklima durch reichliche Entwicklung ihres Assimilations-
und Sekretionsapparates und durch Verstärkung ihrer Stützelemente an-
kämpfen. Verf. hat sich seither damit beschäftigt, zu untersuchen,
wie sich die anormalen Blätter der Dipterocecidien von *Juniperus*
Oxycedrus in dem trockenen und heißen Klima Südfrankreichs und in
dem brennend heißen Algier verhalten. Die histologische Untersuchung
ergab folgende Tatsachen:

1) In dem gemäßigten Klima Südfrankreichs vergrößern das chloro-
phyllhaltige Gewebe der anormalen Nadeln, die Stomata und die Ge-

fäßfügel ihre Dimensionen, während das Bündel und der Sekretionskanal die ihrigen behalten.

2) Weiter südlich, in Algier, sind die Gallen einem trockenen und sehr heißen Klima ausgesetzt; gezwungen, sich auf wirksame Weise zu schützen, weisen die anormalen Blätter nur sehr wenige Stomata und ein schwach differenziertes parenchymatöses Gewebe auf, welches arm an Chlorophyll ist, ebenso sind Bündel und Sekretionskanal trotz großer Hypertrophie der umgebenden Gewebe wenig entwickelt und die zahlreichen Fasern nicht verholzt. In diesem letzten Falle liegt eine Verschärfung der Saharakennzeichen vor, welche ja schon die normalen Blätter des algerischen Wachholderstrauches aufweisen, um sich vor dem Vertrocknen zu schützen.

Houard (Paris).

Houard, C., Recherches anatomiques sur les Diptérocecidiées des Genévriers. (Annales des Sciences naturelles, Paris. Botanique. 9. série. T. I. 1905. p. 67—100. 59 fig. pl. I.)

Verf. vervollständigt seine früheren Arbeiten über die Stengelendgallen oder Acrocecidiées durch eine speziell die Anatomie der Wachholdergallen behandelnde Studie. Diese Gallen sind bekanntlich besonders interessant sowohl wegen ihrer verschiedenartigen Formen als auch wegen der Veränderungen, welche das Gewebe der sie bildenden hypertrophierten Blätter darbietet.

Folgende Gallen sind untersucht worden: Auf *Juniperus communis* und dessen alpiner Spielart: 1) Eine Galle, die von zwei Wirtelblättchen gebildet und durch eine Cecidomyidenlarve verursacht wird; 2) eine Cecidie, die auf *J. alpina* die gleiche Beschaffenheit und Gestalt aufweist; 3) die Galle von *Oligotrophus Panteli*, die aus zwei dreigliedrigen Quirlen spitz auslaufender Nadeln besteht. Zwei durch Cecidomyiden veranlaßte Formen sind auf dem algerischen *J. Oxycedrus* untersucht worden. Die Arbeit schließt mit der histologischen Untersuchung der schönen Gallen von *J. Sabina*, einer kurzen, eiförmigen Cecidie, die durch einen *Oligotrophus* hervorgerufen wird, und einer länglichen prismatischen, von *Oligotrophus Sabinae* erzeugten Cecidie. Zahlreiche in den Text eingestreute Abbildungen sind der anatomischen Untersuchung jeder einzelnen Cecidie beigegeben; jede Einzeluntersuchung schließt mit einer kurzen Zusammenfassung.

Den Schluß der ganzen Arbeit bilden ins einzelne gehende Schlußfolgerungen: der Verf. betont hier besonders die anatomischen Veränderungen der Blätter, welche Folge einer Hemmung in der Entwicklung oder Differenzierung sind, hervorgerufen durch den Einfluß einer direkten Berührung mit der Cecidozoon, oder durch klimatische oder parasitäre Einflüsse. Ebenso können die veränderten Gewebe eine Art Uebertreibung in ihrer Entwicklung oder Differenzierung darstellen. Der Einfluß der Entfernung der Cecidozoon auf das veränderte Gewebe würde hierbei, ebenso wie das Klima, in Anschlag zu bringen sein.

Houard (Paris).

Houard, C., Sur une Lepidoptérocecidiée intéressante du *Scabiosa columbaria* L. (Marcellia, Rivista internaz. di Cecidologia, Avellino. T. IV. 1905. p. 31—39. 4 fig.)

Verf. hat die nachstehenden anatomischen Kennzeichen an einer Lepidopterocecidiée vorgefunden, welche eine starke Anschwellung am Stengel von *Scabiosa columbaria* hervorruft. Diese Anschwellung

bewirkt ihrerseits die Entstehung einer Rosette von Blättern und von seitlichen Zweigen.

1) Allgemeine, von Zellenvermehrung begleitete Hypertrophie sämtlicher Zellen des anormalen Stengels.

2) Anhäufung von Reservematerial in den die Höhlung für die Larve umgebenden Zellen, wodurch in diesen eine Nährschicht gebildet wird.

3) Fehlen von verholzten oder sklerosierten Bestandteilen.

Diese Kennzeichen trifft man gewöhnlich bei den von Schmetterlingen erzeugten Cecidien an.

Es ist sehr wahrscheinlich, daß diese Cecidie von der Raupe von *Orneodes* (*Alucita*) *Hübneri* Wallgr. (*O. hexadactyla* Hübner) erzeugt wird, deren Bibliographie noch kurz erwähnt wird.

Houard (Paris).

Schouteden, H., Note complémentaire sur les Aphidocécidies paléarctiques. (*Marcellia*. Avellino. T. II. p. 91—99.)

In dieser ergänzenden Notiz verbessert der Verf. einige Irrtümer, die sich in seine „Paläarktischen Aphidocecidien“ eingeschlichen hatten und ergänzt mehrere Lücken. Er modifiziert die früher gegebenen analytischen Tafeln der Genera *Crataegus*, *Picea* und *Populus*. Desgleichen werden einige neue belgische Cecidien angegeben wie auch eine gewisse Anzahl aus Remagen stammender, die von Rübsaamen gesammelt worden sind. Wir führen die folgenden neuen oder früher ausgelassenen Cecidien an: *Abies nordmanniana* (*Mindarus abietinus*), *Amaranthus caudatus* (*Aphis rumicis*), *Amygdalus amygdalus* (*Rhopalosiphum dianthi*), *Atriplex hortensis* (*Aphis rumicis*), *Berberis vulgaris* (*Rhopalosiphum berberidis*), *Caltha palustris* (*Rhopalos. calthae*), *Capsella bursa-pastoris* (*Aphis capsellae*), *Carum bulbocastanum* (*Aphide*), *Chrysanthemum leucanthemum* (*Aphis cardui* und *Aphis sp.*), *Epilobium montanum* (*Aphis epilobii*), *Inula conyza* (*Aphide*), *Lampsana communis* (*Macrosiphum alliariae*), *Lithospermum officinale* (*Aphis cardui*), *Papaver rhoeas* (*Aphis rumicis*), *Pastinaca sativa* (*Aphis rumicis*), *Phacelia tanacetifolia* (*Aphis sp.?*), *Plantago major* (*Aphis myosotidis*), *Rhinanthus major* var. *alectorolophus* (*Aphis myosotidis*), *Senecio vulgaris* (*Aphis jacobaeae*), *Solidago virga aurea* (*Aphis sp.?*), *Sonchus oleraceus* (*Rhopalos. lactucae*), *Steironema ciliatum* (*Aphis rumicis?*)

Houard (Paris).

Kieffer, J. J., Description de deux nouveaux genres de Cynipides. (*Bull. Soc. Ent. France*. 1903. p. 31.)

Verf. beschreibt zuerst das neue Genus *Liebelia*, dessen eine Art auch *Rosa Seraphini multiloculare* Gallen erzeugt, die in Sardinien beobachtet und bereits 1895 von C. Massalongo (*Nuovo. Giorn. bot. it.* p. 99—102. pl. III) beschrieben worden sind.

Das andere Genus *Fioria*, welches *Callirhytis* sehr nahe verwandt ist und daher vom Verf. diesem zuerst zugerechnet wurde, hat zum Typus ein Insekt, dessen sowohl geschlechtliche wie ungeschlechtliche Formen schon früher mit dem Namen *Callirhytis Marianii* und *C. Meunieri* bezeichnet worden waren.

Houard (Paris).

Kieffer, J. J., Notes hyménoptérologiques. (*Bull. Soc. Ent. France*. 1903. p. 93—95.)

Der Name des Genus *Fioria*, der 1898 für ein Myriapodengenus benutzt worden war, wird in *Fioriella* umgewandelt.

Howard (Paris).

Nalepa, Alfred, Neue Gallmilben. (26. Fortsetzung.) (Anzeiger der kaiserl. Akademie der Wissenschaften in Wien. Jahrg. XLII. 1905. No. 7. p. 79—80.)

Beschrieben wird *Eriophyes carlinae* n. sp., die weißfilzige Behaarung auf *Carlina* (*Atractylis*) *gummifera* Less. erzeugt.

Matouschek (Reichenberg).

Wahl, Bruno, Zur Kenntnis schädlicher Schmetterlingsraupen. Die Raupe von *Plodia interpunctella* Hw. (Zeitschrift für das Landwirtschaftliche Versuchswesen in Oesterreich. 1905. p. 950.)

Es ist eine schwer empfundene Tatsache, daß die Raupen der Kleinschmetterlinge bis heute noch zum großen Teil nicht eine eingehendere Beschreibung und bildliche Darstellung erfahren habe, die zu ihrer Wiedererkennung genügen würde. Obwohl die Art der Beborstung oder Behaarung, die Anordnung von Warzen am Körper für viele Raupen diagnostisch verwertbar zu sein scheinen, ist hierüber noch wenig veröffentlicht worden. Mit der vorliegenden Mitteilung will nun Verf. den Anfang machen, von einer Anzahl der Kleinschmetterlingsraupen eingehendere Darstellungen zu geben und beginnt mit der Raupe von *Plodia interpunctella* Hw., welche nicht selten im Getreide, getrockneten Früchten, speziell in Feigen, in Korinthen, Kastanien, Pinienfrüchten, sowie in aus solchen Früchten hergestellten Nahrungsmitteln, wie Mehl, Brot, Fruchtbrot und dergleichen gefunden wird. Verf. gibt nun eine genaue Beschreibung der Raupe, unterstützt durch Zeichnungen. Es kann an dieser Stelle auf die Ausführungen nur verwiesen werden.

Stift (Wien).

Filippo, Silvestri, L' *Ocnogina betica* (*Ocnogyna baeticum* Ramb.) Conosciuta volgarmente allo stato larvale col nome di Bruco peloso. (R. Scuola super. Agricolt. Portici. Laborat. entom. agrar. Boll. Ser. 2. No. 10. 1905. p. 12.)

Im März und April 1904 wurden dem zoologischen Laboratorium in Portici aus verschiedenen Teilen des südlichen Italien Raupen übersandt, welche an Kulturgewächsen Schaden anrichteten und der bisher in Italien unbekanntem Art *Ocnogyna baeticum* Ramb. (Arctiidae) angehörten. Die verschiedenen Zustände des Insekts sind in der Arbeit näher beschrieben. Nach eingesandten Exemplaren zu urteilen, ist die Art von der Provinz Cosenza über Apulien bis nach den Provinzen Chieti und Teramo verbreitet. Auf der westlichen Seite Italiens ist sie nur von Rom bekannt. Da das ♀ flügellos ist, so kann man nicht annehmen, daß der Schmetterling erst kürzlich in Italien eingeführt ist. Der Verf. meint, daß in Folge ungünstiger Verhältnisse die Art früher in geringerer Individuenzahl vorhanden war und sich so der Aufmerksamkeit auch der entomologischen Sammler entzogen habe. Außerhalb Italiens kennt man sie von Spanien, Marokko, Algier und Tunis. Ueber Schäden, die sie in diesen Ländern verursacht hätte, liegen aber keine Berichte vor. Im Laboratorium kamen die Schmetterlinge von September bis November aus. Das ♀ legt 300—400 Eier. Die Eihäufchen, welche mit Haaren bedeckt sind, befinden sich in Erdspalten oder an der Basis

von Gestrüpp oder Gesträuch. Nach Funden von jungen Raupen kommen die Raupen aus dem Ei anfangs März aus. Die Räumchen eines Geleges bleiben beisammen. Sie spinnen ein zartes Gewebe, unter dem sie vereint das Parenchym der Blätter fressen. Ist an der Fraßstelle das Futter erschöpft, so rücken sie weiter, indem sie das Gewebe ausdehnen. Bei Raupen, die sich zum zweiten Male gehäutet hatten und 1 cm maßen, hatte das Gewebe eine Ausdehnung von $\frac{1}{2}$ m Länge und 5—15 cm Breite. In solchen Raupenhäufchen wurden 200—300 Individuen gezählt. Nach der dritten Häutung zerstreuen sich die Raupen und werden dann schädlich. Erwachsen ist die Raupe zwischen Ende April und Mitte Mai. Sie verwandelt sich dann um die Bäume herum, zwischen Gestrüpp und Gesträuch, auf wüstem, unbebautem Lande oder an den Grabenrändern oder Straßendämmen. Hier halten sich auch gewöhnlich die Raupen auf. Die Puppenruhe dauert die ganze trockene Jahreszeit bis zum September—November. Die Raupen fressen von wildwachsenden Pflanzen besonders *Verbascum*, *Thapsia*, *Echium*, *Salvia*, *Sisymbrium*, *Plantago*, *Reseda*, *Genista*, *Cichoriaceen* u. a., welche an den erwähnten Orten wachsen. Bei starker Vermehrung gehen die Raupen aber auch auf die bebauten Aecker. Die noch jungen Tiere ernähren sich dort von Gramineen und besonders von Leguminosen. Bei dicken Blättern, z. B. bei denen von Erbsen und Bohnen, lassen sie die Epidermis der Unterseite übrig. Nachdem sich die Raupen nach der dritten Häutung zerstreut haben, wird ihre Gefräßigkeit sehr stark. Sie begeben sich gerade dann aus den unbebauten Ländereien in die bebauten, besonders wenn sie mit Leguminosen bebaut sind. Sie fressen nicht nur die Blätter, sondern auch die zarten Sprosse und zarten Teile von Bohnen, Erbsen, Klee und verschonen auch Kartoffeln und Artischocken nicht. Wo sie Reben, Fruchtbäume (Feigen-, Pflirsichbäume), Maulbeerbäume finden, überfallen sie auch diese und fressen die zarten Triebe ab. Von natürlichen Feinden der Raupe wurde bei der Aufzucht im Laboratorium ein Pilz (*Entomophthora*) beobachtet, welcher 98 Proz. der Raupen zerstörte. *Leonardi* hatte im Freien festgestellt, daß der größte Teil der Raupen schlaff wurde und zu Grunde ging (*flaccidezza*). Für die Vernichtung der jungen Raupen empfiehlt Verf. die Benutzung eines Pflasterstumpfers oder eines Schlägels, mittels dessen die beisammensitzenden Raupen leicht zerdrückt werden. Die Nester der jungen Raupen lassen sich am besten des Morgens erkennen, wenn der Tau das die Raupen bedeckende Gewebe silberglänzend erscheinen läßt. Für die erwachsenen, einzeln lebenden Raupen rät der Verf. Sammeln oder Töten durch Insekticiden. Er empfiehlt von den letzteren eine Emulsion von Schwefelkohlenstoff mit alkalisch gemachtem Teer oder solchen allein, z. B. „Rubina“, zu 7 Proz. Die Flüssigkeiten können aber nur auf unbebautem Lande oder bei Pflanzen ohne zarte Gebilde angewandt werden, da sie leicht die pflanzlichen Organe angreifen. Das beste Vernichtungsmittel ist aber das erwähnte Zerquetschen der jungen Raupen.

J. Dewitz (Geisenheim).

Koch, Die Maulwurfsgrille (*Gryllotalpa vulgaris* Latr.) als Rindenschädling junger Fichtenpflanzen. (Naturwissenschaftl. Zeitschrift für Land- und Forstwirtschaft. 1905. Heft 11.)

An Fichtenpflanzen zeigte sich die Rinde an einzelnen Stellen oder auch rings um das Stämmchen abgenagt. Die Ränder der Wunden waren oft langfaserig. Durch Versuch ließ sich bestätigen, daß eine

Schädigung durch Maulwurfsgrillen vorlag, wobei übrigens Wurzelverletzungen nicht festzustellen waren. Auch Fichtensämlinge wurden durch Maulwurfsgrillen vernichtet, obwohl den Tieren Fleischnahrung zu Gebote stand.

Der Schaden betrug außer der Vernichtung der ganzen Saat in den geschädigten Pflanzengärten 25—30 Proz. der verschulden Pflanzen.

Verf. gibt dann eine ganze Reihe von Bekämpfungsmitteln, ohne dieselben, deren vielfach zweifelhaften Wert er betont, allerdings daraufhin zu sichten.

Ehrenberg (Breslau).

v. Tubeuf, Verlust der Sproßspitzen an Fichten durch Eichhörnchen. (Naturwissenschaftl. Zeitschrift für Land- und Forstwirtschaft. 1905. Heft 11.)

Verf. erwähnt die Beobachtung eines Eichhörnchens beim Abbeißen von Fichtensproßspitzen. Es folgen dann Feststellungen über den Zuwachsverlust durch derartige Schädigungen, Angaben und Abbildungen über ihr Ausheilen.

Ehrenberg (Breslau).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Gosio, B., I telluriti ed i seleniti come rivelatori delle inquinazioni batteriche. (Rendiconti d. Accademia d. Lincei, [CCCII], [5]. Vol. XIV. 1905. II. Sem. p. 188. Frühere Mitteilungen hierüber: Ebenda, 24. April und 15. Mai 1904.)

Tellurig- und selenigsaure Alkalien können als zuverlässige Anzeiger eines bakteriellen Lebens dienen. Sie werden von mehreren Bakterien aufgenommen und unter intracellulärer Bildung schwarzer, resp. roter Reduktionsprodukte zersetzt. Als sehr praktisch erweist sich das tellurigsaurer Kalium. Obwohl die Reaktion von der Bakterien- und Reagenzmenge abhängt, darf man eine gewisse Dosis nicht überschreiten. Die Reaktion wird von allen das Bakterienleben fördernden Faktoren erleichtert. In Bouillon und Milch tritt sie am schnellsten, in eiweißreichen Böden schlechter auf. Glukosezusatz wirkt günstig. Die schönsten Resultate erzielt man bei den gewöhnlichen Luftkeimen. Tote Bakterienteile geben keine derartige Reaktion, weder mit Telluriten noch mit Seleniten. Daher die große Wichtigkeit dieser biologischen Methoden von Gosio zur Beurteilung von Handelskulturen, zur Ueberwachung steriler Infektionsflüssigkeiten u. s. w. — Eine sichtbare Reduktion tritt 2—7 Tage nach der Impfung auf. Eine Gefahr für Menschen ist aus folgenden Gründen nicht vorhanden: 1) man kann das Reagens in der Verdünnung 1:100000 oder 1:200000 und noch weiter anwenden; 2) in verschiedenen Versuchstieren ruft erst eine Impfung mit 5—10 ccm einer 1:25000igen Lösung beschränkte, bald vorübergehende Erscheinungen hervor; 3) zu hypodermalen Impfungen braucht man nur wenige Kubikcentimeter Flüssigkeit. — Telluriten halten sich in den gewöhnlichen Nährböden sehr lange unzersetzt. Ohne Bakterienwirkung würden sie sich erst bei sehr hohen Temperaturen, Gegenwart reduzierender Stoffe oder im Vakuum spalten.

Pantanelli (Rom).

Perotti, R., Di una modificazione al metodo di isolamento dei microorganismi della nitrificazione. (Rendiconti d. Accademia d. Lincei in Roma. [CCCII]. [5]. Vol. XIV. 1905. I. Sem. p. 228.)

Perotti, R., Di una forma nitrosante isolata da un terreno di Roma. (Annali di Botanica. Vol. III. 1905. p. 43.)

Zur Kultur von Nitritbakterien empfiehlt Verf. Scheiben aus $MgCO_3$, welche mit der Nährlösung imbibiert werden. Die Aussaat erfolgt durch Aufgießen der bakterienhaltigen Flüssigkeit. Die Nitritbakterien fressen sich in die Magnesia ein. Mit Hilfe dieser Methode, sowie der Kieselsäuregallerte nach Winogradsky konnte Verf. aus dem Boden der römischen Campagna eine Nitritform isolieren. Zur Rohkultur und den daraus entnommenen ersten Kulturen diente mit Omelianskyscher Lösung imbibierte Koksschlacke, die eine rasche Nitrosation gestattete.

Diese Nitrosobakterien sind 0,6–0,8 μ große Kokken mit Neigung zur Bacillenform; sie bewegen sich mit Hilfe einer 1 μ langen Geißel, vereinzelt oder zu 2–6 Zellen vereinigt, wobei sie von keinem Schleim zusammengehalten werden. Die Bewegung fängt aber erst nach reicher Nitritbildung an. Sie bilden keine Zoogloea, entwickeln sich nicht bei Gegenwart organischer Stoffe, nehmen die Gramsche Färbung nicht und teilen sich sehr spärlich. Gute Durchlüftung, richtige Verdünnung der Nährlösung, geeignete Temperatur (20°), vor allem Anpassung der nachfolgenden Generationen an die Kulturbedingungen begünstigen die Nitritbildung.

Von der Stutzerschen Form (1901) weicht die römische erheblich ab; sie nähert sich vielmehr den beiden Winogradskyschen Nitrosomonaden und bildet gewissermaßen einen Uebergang von der westeuropäischen zur asiatischen Form. Trotzdem hält es Verf. für angezeigt, die neue Nitrosobakterie vorläufig mit *Pseudomonas* (Nitroso-) *europaea* (Win.) *Migula* zu vereinigen. Pantanelli (Rom).

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Bokorny, Th., Nochmals über die Wirkung stark verdünnter Lösungen auf lebende Zellen. (Pflügers Archiv. 1905. November.)

Verf. hielt es für zweckmäßig, die Experimente, welche bei Kupfer-, Silber- und Quecksilbersalzen zu so merkwürdigen Resultaten geführt hatten, nun noch weiter fortzusetzen und auf zahlreiche andere Stoffe auszudehnen.

Es war festzustellen, ob es denn noch andere Stoffe gibt, die bei so enormen Verdünnungen reagieren, gegen die also das Plasma eine staunenswerte aufsammelnde Tätigkeit entfaltet, ohne durch allzu geringe Konzentration der Lösungen daran gehindert zu werden.

Ferner sollte dargelegt werden, ob bei den verschiedenen verbindungs-fähigen Giften eine bestimmte Konzentrationsgrenze besteht, über die hinaus unter keinen Umständen (auch nicht bei sehr großen Lösungsmengen) eine Verbindung mit dem Plasma und damit Tötung eintritt, welches dieses Verdünnung sei, welche Zeit bei den verschiedenen Verdünnungen nötig sei etc.

Die Giftlösungen, welche nicht augenblicklich töten, können natürlich den nach einigen Minuten oder nach Stunden erfolgenden Tod nur dadurch bewirken, daß sie in eine wegen Bildung unlöslicher Verbindungen immer weiter fortschreitende Reaktion mit dem Plasma treten.

Es ist besonders instruktiv, die Wirkung der verdünnten Anilin-

farbenlösungen nach dieser Richtung zu beobachten. Hier kann man an der zunehmenden Färbung den allmählich fortschreitenden Verbindungsvorgang erkennen.

Bei nicht färbenden Giften muß man durch nachträgliche chemische Reaktionen (H_2S bei Schwermetallen etc.) die Anhäufung des Giftes im Plasma erkennen.

Die Untersuchungen wurden meist an Infusorien ausgeführt, weil an der Veränderung und Einstellung der Bewegung die schädliche Wirkung unmittelbar erkannt werden kann.

Folgendes gibt eine Uebersicht der Resultate. Die Verdünnungen, in welchen viele Substanzen noch auf das lebende Protoplasma reagieren, d. h. sich mit dem aktiven Eiweiß desselben chemisch verbinden, sind staunenswert, in einzelnen Fällen geradezu beispiellos. Eine unten folgende tabellarische Zusammenstellung wird hierüber einigen Ueberblick gewähren.

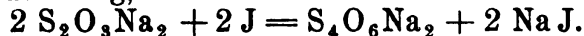
Einstweilen seien einige als empfindlich bekannte chemische Reaktionen zum Vergleiche angeführt.

Läßt man Säuren und Basen auf Lackmuspapier einwirken, so erfolgt bekanntlich mit ersteren eine Rot-, mit letzteren eine Blaufärbung. Besonders empfindliche Lackmuspapiere können von Chemikalienhandlungen, Apotheken etc. bezogen werden.

Mit 0,01 Proz. Schwefelsäure gibt empfindliches Lackmuspapier sogleich eine deutliche Rotfärbung. Sogar in 0,001 Proz. färbt es sich noch ein wenig. Mit 0,0002 Proz. aber tritt keine Veränderung ein.

Macht man denselben Versuch mit Natriumhydroxyd, so tritt schon bei 0,01 Proz. die Reaktion nur schwach und allmählich ein. Am besten ist es, man taucht den Lackmusstreifen stark ein und hängt ihn dann auf, so daß die nicht ganz in den Poren festgehaltene Flüssigkeit in einem großen Tropfen an der unteren Kante sich sammelt. Hier bemerkt man dann deutliche Blaufärbung, jedenfalls infolge von allmählicher Aufsammlung der Base. Schon in Lösung von 0,002 Proz. tritt aber keine Spur von Reaktion mehr ein.

Eine andere als empfindlich bekannte Reaktion ist die zwischen Jod und unterschwefligsaurem Natron; letzteres wird als „Fixiernatron“ in der Photographie angewendet und muß, da es ein gefürchtetes, bildverderbendes Mittel ist, sorgfältigst ausgewaschen werden. Zur Probe, ob es völlig entfernt sei, wendet man blaue Jodstärke an (1 g Jod in 25 ccm Alkohol, ferner 1 g Stärke auf 100 g kochendes Wasser); beide werden gemischt, von der Lösung gibt man einige Tropfen in ein Reagenzglas, dann gießt man das zu prüfende Waschwasser darauf. Es tritt sogar bei 1 Millionstel Verdünnung des unterschwefligsauren Natron noch Entfärbung ein, indem Jod in Jodnatrium verwandelt wird; das ist aber die äußerste Verdünnung, bei welcher die Reaktion noch gelingt.



Es gibt dann noch eine weitere Probe, welche mit einer (mit Essigsäure angesäuerten) 2-proz. Silbernitratlösung ausgeführt wird. 1–2 ccm dieser Lösung werden in ein Becherglas gegeben, in welchem sich das zu prüfende Waschwasser befindet. Etwa anwesendes Fixiernatron ruft

| | | | | | | |
|-----|-------|------------------|--------|-------|----------|-----------------------|
| bei | 0,1 | Proz. Verdünnung | binnen | 10–30 | Sekunden | Braunfärbung |
| | 0,01 | „ | „ | 10–30 | „ | deutliche Gelbfärbung |
| | 0,001 | „ | „ | 10–50 | „ | keine Färbung |

hervor.

Letztere Reaktion ist also nicht so empfindlich wie erstere, aber

immerhin recht instruktiv für den Einfluß der Verdünnung auf das Gelingen der chemischen Reaktionen.

Ueber das Verhalten von Silberlösungen gegen verschiedene organische Stoffe hat O. Loew Untersuchungen gemacht (Chem. Kraftquelle im leb. Protopl. p. 10 ff.); ebenso über einige andere Schwermetallsalze.

Neutrale Silberlösung ist hiernach nur von wenigen organischen Körpern reduzierbar; mehrfach hydroxylierte Benzolderivate gehören zu diesen wenigen. Alkalische Silberlösung aber wird von vielen reduziert, hydroxylierte Benzolderivate sind hiergegen sehr empfindlich.

Ketone wirken nur auf relativ konzentrierte Lösungen ein.

Salze von Hydroxylsäuren, wie Weinsäure, wirken auf 1-proz. alkalische Silberlösung kaum mehr ein.

Aldehyde reagieren gegen alkalische Silberlösung noch bei Verdünnung 1:200 000. Daß das lebende Protoplasmaeiweiß aus alkalischer Silberlösung noch bei Verdünnung 1:100 000 oder sogar 1:1 Million Silber abscheidet (infolge seiner Amid-Aldehydbeschaffenheit) wurde von O. Loew und Verf. früher hervorgehoben.

Pyrogallol, Gallussäure und Gerbsäure vermögen bereits das Silber nicht mehr aus alkalischer Lösung abzuscheiden, wenn diese weniger als $\frac{1}{12\,000}$ AgNO₃ enthält. Ameisensaure Salze reagieren schon bei dem 12-fachen dieses Silbergehaltes nicht mehr.

Aethylaldehyd wird durch alkalische Goldlösung noch bei Verdünnung 1:200 000 oxydiert unter Abscheidung des Goldes aus der Lösung.

Alkalische Osmium- und Palladiumlösung dagegen geben selbst bei 1 Proz. Metallgehalt mit Aethylaldehyd bei gewöhnlicher Temperatur nur sehr allmählich eine Metallabscheidung und bei der 10-fachen Verdünnung erfolgt dieselbe selbst beim Erwärmen äußerst langsam. Die äußerst schwache, nur unter Mitwirkung von Wärme zu erreichende Endreaktion liegt etwa bei einem Verhältnis von 1 Teil Metall auf 12 000 Teile Wasser. Aehnlich sind die Verhältnisse beim Platin.

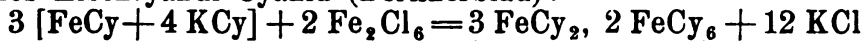
Alkalische Quecksilberlösung wird durch Aldehyde höchstens noch bei 1:2000 reduziert, durch Glykose und Gerbstoff aber noch bis 1:6000.

Bekannte Reaktionen sind die zwischen Gerbstoff und Eisenoxysalzen, ferner zwischen Schwefelcyankalium (Rhodankalium) und Eisenoxysalzen; endlich zwischen gelbem Blutlaugensalz und Eisenoxysalzen.

Gerbstoff (oder Gallustinktur) gibt bekanntlich mit Eisenoxysalzen einen blauen bis schwarzen Niederschlag.

Schwefelcyankalium (Rhodankalium) erzeugt eine blutrote, nicht durch Salzsäure, aber durch essigsäures Natron verschwindende Färbung.

Gelbes Blutlaugensalz (Ferrocyankalium) erzeugt in Salzsäure unlösliches Eisencyanür-Cyanid (Berlinerblau):



Berlinerblau

Wenn man eine 0,01-proz. mit etwas freier Salzsäure versetzte Eisenchloridlösung mit der Lösung des gelben Blutlaugensalzes versetzt, so erfolgt augenblicklich eine starke Blaufärbung der Flüssigkeit.

In 0,001-proz. Lösung tritt auch sogleich eine grünblaue Färbung ein.

Sogar 0,0001-proz. Eisenchloridlösung zeigt bei Zusatz von Ferrocyankalium noch eine schwache grünliche Färbung.

Hier aber dürfte die Grenze der Reaktionsfähigkeit nahezu liegen.

In einer 0,01-proz. mit freier Salzsäure versetzten Eisenchloridlösung bringt Gerbsäure (Tannin) sogleich eine tintenartige blauschwarze Färbung hervor.

In 0,001-proz. Lösung vermag Gerbsäure kaum noch eine Spur von Dunkelfärbung hervorzubringen.

0,0001-proz. Eisenchloridlösung wird von Gerbsäure absolut nicht verändert.

Die Grenze der Reaktion liegt also schon bei 0,001 Proz.

0,01-proz. mit Salzsäure angesäuerte Eisenchloridlösung wird von Rhodankaliumlösung sogleich blutrot gefärbt.

In 0,001-proz. Lösung ruft Rhodankalium augenblicklich eine gelbrote Färbung hervor.

0,0001-proz. Eisenchloridlösung wird von Rhodankalium gerade noch etwas gelblich gefärbt, so daß man an dickeren Schichten der Lösung einen gelben Schein wahrnimmt.

Die Grenze der Reaktionsfähigkeit ist also hier mit 0,0001 Proz. erreicht.

Wenn wir die angegebenen Versuche über chemische Reaktionsfähigkeit überblicken, so sehen wir, daß manche Reaktionen schon bei Verdünnung 1:100 aufhören einzutreten, andere bei 1:10000; selten sind Reaktionen, die bei Verdünnung 1:1 Million noch gelingen.

Nun möge zum Vergleich eine tabellarische Zusammenstellung von physiologischen Reaktionen, d. h. Reaktionen zwischen Protoplasmaeiweiß und verschiedenen Substanzen, Platz finden.

(Siehe Tabellen p. 263—266.)

Unter allen Giften zeichnen sich, wie aus vorstehender Uebersicht hervorgeht, die Metalle der Kupfergruppe, Kupfer, Silber, Quecksilber, durch die größte Reaktionsfähigkeit aus. Kein anderes Gift bringt noch bei Verdünnung 1:100 Millionen oder gar 1:1000 Millionen eine schädliche Wirkung hervor. Ausgenommen könnten höchstens die speziellen Nervengifte sein, die oft in geringster Quantität bestimmte Nervenzentren lähmen oder töten und damit das ganze Tier zum Absterben bringen, wie z. B. die Blausäure, die Alkaloide etc. Man weiß nun freilich nicht genau, wie groß die Verdünnung ist, in welcher das betreffende Gift faktisch zur Einwirkung auf die Ganglienzelle gelangt.

Fälle, in denen das Gift schon bei Verdünnung 1:100000 auf Infusorien oder niedere Pflanzen wirkt, sind recht selten. Formaldehyd geht nahe an diese Grenze hin, Anilinfarben erreichen dieselbe oft, Uranacetat, Chlor, Salzsäure etc. ebenfalls.

Will man das feststellen, so ist stets darauf zu achten, daß größere Mengen von Lösung auf relativ kleine Mengen von Versuchsobjekten einwirken gelassen werden, weil sonst die Gesamtmenge des Giftes nicht ausreicht, um die schädliche Wirkung zu Ende zu führen.

Auch ist in solchen Fällen oft eine längere Versuchsdauer einzuhalten. Manchmal tritt freilich sogar bei Verdünnung von 0,001 Proz. die Giftwirkung fast augenblicklich hervor, was entweder auf einer sehr großen Reaktionsgeschwindigkeit und Diffusionsgeschwindigkeit des betreffenden Stoffes, oder darauf beruhen kann, daß die zur Vergiftung nötige Gesamtmenge des Stoffes eine relativ kleine ist, so daß die zur Aufsammlung nötige Zeit schon aus diesem Grunde nur kurz zu sein braucht.

Viele Gifte aber wirken überhaupt nur bei Verdünnung von 0,1 Proz.

Tabellarische Uebersicht der Verdünnungsgrade verschiedener Gifte und ihrer Wirkung.

| Bezeichnung der schädlichen (verbindungs-fähigen) Substanz | Verhalten bei großen Verdünnungen | Sonstige Bemerkungen |
|--|---|--|
| Schwefelsäure | 0,1 oder 1 Proz. tötet Paramäcien augenblicklich. Fadenalgen reagieren nicht sogleich auf 0,1 Proz. 0,01 Proz. tötet weder Algen noch niedere Tiere, auch nicht, wenn sie in großem Ueberschuß angewendet wird; sie scheint vielmehr als Anreiz zu lebhafterer Tätigkeit zu wirken | Schwefelsäure verbindet sich also wohl bei 0,1 Proz., nicht aber bei 0,01 Proz. mit Plasma-eiweiß |
| Salzsäure | In 0,01 Proz. hören binnen wenigen Minuten alle Bewegungen auf; sogar 0,001 Proz. wirkt tödlich auf Paramäcien und Schwärmsporen | Salzsäure verbindet sich leichter als Schwefelsäure. Manche Zellen sind freilich widerstandsfähiger (der Magensaft enthält mehr als 0,1 Proz. Salzsäure) |
| Weinsäure | In 0,1 Proz. sterben Infusorien sogleich, Algen binnen 24 Stunden ab. Anguillula-Arten und Distomen bleiben aber beweglich 0,01 Proz. scheint den meisten Mikroorganismen nicht zu schaden | |
| Calciumhydroxyd | 0,1-proz. Lösung tötet Infusorien augenblicklich; auch andere Mikroorganismen leiden bald Schaden, nach 24 Stunden ist alles tot. Nach O. Loew tötet sogar 0,015-proz. Lösung die Fadenalge Spirogyra. Bei meinen Versuchen zeigten sich Infusorien widerstandsfähig gegen 0,01 Proz., von den vorhandenen Fadenalgen starb nur ein Teil ab | Nur bei einem Organismus, dem Typhusbacillus ist eine über nebenstehende Angaben hinausgehende Empfindlichkeit beobachtet worden (0,007 Proz. Aetzkalk noch tödlich) |
| Kaliumhydroxyd | In 0,1-proz. Lauge starben Paramäcien augenblicklich ab; durch 0,01 Proz. werden sie auch bei längerem Aufenthalt nicht getötet. 0,05 Proz. macht die Plasmaströmung der Caraceen aufhören | |
| Dinatriumphosphat | Ist so gut wie unschädlich, trotz seiner ziemlich kräftigen alkalischen Reaktion; erst wenn die Konzentration bis zu 2,5 Proz. steigt, wirkte es schädlich, durch Wasserentzug (wie ganz neutrale Salze, z. B. Kochsalz, auch) | |
| Salpetersaures Quecksilberoxyd | Sogar 0,001 Proz. schädigt Infusorien fast augenblicklich; binnen wenigen Minuten tritt der Tod ein unter Trübung. 0,01 Proz. wirkt wie auch 0,1 Proz. momentan tödlich | Die abgestorbenen Infusorien sind körnig getrübt. H ₂ S ruft Dunkel-färbung hervor |
| Quecksilberchlorid (Sublimat) | Schädigt Algenzellen noch bei Verdünnung 1:100 Millionen. Sogar 1:1000 Millionen, wenn die Lösung in genügender Menge lange genug einwirken gelassen wird, wirkt noch | 0,0003 Proz. hindert die Auskeimung der Milzbrandsporen (R. Koch). H ₂ S ruft an getöteten Algen Schwarzfärbung in Zellkern und Plasma hervor |
| Salpetersaures Silber (Höllenstein) | 0,001 Proz. tötet Infusorien. 0,0002 Proz. hindert die Fäulnis | Mit Schwefelwasserstoffwasser nehmen die getöteten Infusorien eine starke Bräunlichfärbung an |

| Bezeichnung der schädlichen (verbindungs-fähigen) Substanz | Verhalten bei großen Verdünnungen | Sonstige Bemerkungen |
|--|---|--|
| Kupfervitriol (CuSO ₄ +5H ₂ O) | <p>In 0,1 Proz. sterben Infusorien augenblicklich unter Trübung ab; in 0,01 Proz. leben nur die widerstandsfähigeren einige Minuten weiter, dann stellen auch sie die Bewegung ein.</p> <p>Fäulnisbakterien entwickeln sich nicht bei Gegenwart von 0,001 Proz. Vitriol, wohl aber bei 0,0002 Proz.</p> <p>Fadenalgen (Chladophora, Conferva, Vaucheria, Spirogyra etc.) sterben binnen 2 Tagen in Lösung 0,002 Proz. ab.</p> <p>Spirogyren werden durch 0,000001 Proz. schon binnen 24 Stunden geschädigt, besonders in den Chlorophyllapparaten</p> | <p>Mit H₂S nehmen die getöteten Infusorien dunklere Farbe an.</p> <p>Getötete Algen schwärzen sich mit Schwefelwasserstoffwasser in Zellkern und Plasma.</p> <p>Manche Schimmelpilze wachsen noch bei Gegenwart von 1 Proz. Kupfervitriol</p> |
| Goldchlorid | <p>0,1 Proz. tötet Infusorien augenblicklich, 0,01 erst binnen 30 Minuten (manche widerstandsfähigen Individuen erst binnen 24 Stunden), 0,001 Proz. tötet sie binnen 24 Stunden nicht.</p> <p>0,05-proz. Goldlösung ist giftig für Maispflanzen (Knop)</p> | Abgetötete Infusorien körnig getrübt |
| Zinnchlorür | 0,1 Proz. tötet Infusorien momentan; 0,01 Proz. betäubt sie, dann nehmen sie ihre ursprüngliche Bewegung wieder an | |
| Essigsäures Blei (Bleizucker) | <p>0,1 Proz. tötet die resistenteren Infusorien erst binnen 10 Minuten. In 0,01 Proz. bleiben sie 24 Stunden lang völlig unverändert; auch Diatomeen und die Fadenalgen Cladophora und Vaucheria sterben nicht völlig ab</p> <p>0,001 Proz. schädigt die Spirogyrenfäden binnen 4 Tagen nur in einem Teil der Zellen; Chlorophyllbänder in Unordnung; Fäden in kurze Stücke zerfallen. 0,0001 Proz. ist völlig wirkungslos</p> | Abgetötete Infusorien körnig getrübt. Schwefelwasserstoff ruft Braunfärbung hervor |
| Schwefelsäures Cadmium | 0,001 Proz. ist unschädlich für Infusorien; 0,01 Proz. tötet erst binnen 24 Stunden. 0,1 Proz. tötet erst nach Stunden, die Bewegungen verlangsamen sich allmählich | |
| Schwefelsäures Zink (Zinkvitriol) | Erst bei 0,0001 Proz. nehmen die Infusorien keinen Schaden; 0,001 Proz. tötet binnen 3 Tagen; 0,01 Proz. binnen 24 Stunden; 0,1 Proz. nicht augenblicklich | Abgetötete Infusorien körnig getrübt † |
| Eisenvitriol | 0,1 Proz. tötet Spirogyren binnen 24 Stunden nur ungefähr zur Hälfte; Blütenpflanzen bleiben eine Woche lang am Leben. 0,1 Proz. hindert die Fäulnis, 0,02 Proz. nicht | |
| Schwefelsäures Nickel | In 0,1 Proz. sterben Infusorien nicht augenblicklich, aber nach 24 Stunden; 0,01 Proz. tötet sie binnen 24 Stunden; ebenso 0,001 Proz. 0,0001 Proz. schadet binnen 3 Tagen nicht | |
| Salpetersaurer Kobalt | 0,1 Proz. tötet nicht augenblicklich, aber binnen 1 Stunde; 0,01 Proz. schadet binnen 24 Stunden nicht | |

| Bezeichnung der schädlichen (verbindungs-fähigen) Substanz | Verhalten bei großen Verdünnungen | Sonstige Bemerkungen |
|--|---|---|
| Schwefelsaures Mangan | 0,1 Proz. tötet binnen 24 Stunden nicht. 1 Proz. tötet erst binnen 1 Stunde manche weniger resistente Infusorien | |
| Uranacetat | 0,1 Proz. tötet Infusorien sofort. In 0,01 und auch in 0,001 Proz. stellen Infusorien augenblicklich oder in wenigen Minuten ihre Bewegung ein, nach 24 Stunden sind sie abgestorben. 0,0001 Proz. ist nicht schädlich | Körnige Trübung der abgestorbenen Zellen Nach O. Loew schädigt 0,05 Proz. Uranyl-nitrat junge Erbsen- u. Gerstpflanzen, 0,01 Proz. ist nicht mehr schädlich; 0,0002 Proz. wirkt stimulierend |
| Ueberosmiumsäure | 0,1 Proz. tötet Infusorien momentan; 0,01 Proz. lähmt die Bewegung zuerst, nach 24 Stunden schwimmen sie wieder lebhaft hin und her | |
| Galogene (freie) | 0,01 Proz. Chlor tötet binnen 1 Stunde Algen und Infusorien, 0,005 Proz. binnen 24 Stunden, desgleichen 0,002 und 0,001 Proz. Brom ist etwas weniger energisch, tötet schon bei 0,005 Proz. binnen 24 Stunden nicht alle Algen und Infusorien; 0,002 u. 0,001 Proz. sind unschädlich Jod ist noch bei 0,002 Proz. tödlich für Algen und Infusorien binnen 24 Stunden; bei 0,001 Proz. finden sich nach 24 Stunden noch einige lebende Algen vor | |
| Uebermangansaures Kali (Kaliumpermanganat) | Algen sterben in Lösung von 0,002 Proz. binnen 6 Stunden zum Teil ab; Infusorien bleiben dabei am Leben. 0,001 Proz. ist auch für die Algen unschädlich; Infusorien sterben in 0,005 Proz. ab | 0,001 Proz. verzögert die Fäulnis etwas |
| Wasserstoff-superoxyd | 0,01 Proz. tötet Infusorien binnen 15—30 Minuten (Paneth); 0,005 Proz. ist nicht für alle Individuen tödlich Vicia und Trianea ertragen 0,1 Proz. H ₂ O ₂ einige Zeit | |
| Chlorsaures Kali | 0,01 Proz. macht Buchweizenkeimlinge binnen 3 Wochen unter Erbleichen absterben; Spirogyren sterben nach mehreren Tagen Aërobe Pilze sollen (nach Binz) bis zu 3 Proz. vertragen | Es scheint, daß KClO ₃ vorwiegend auf die Chlorophyllapparate wirkt |
| Blausäure | 1 Proz. tötet Paramäcien augenblicklich; 0,1 Proz. aber selbst binnen 4 Tagen nicht, auch nicht bei Anwendung von sehr viel Lösung. 1:430 tötet Droseratentakel (Darwin) Warmblüter werden durch Spuren Blausäure getötet (Lähmung des Atmungszentrums) | Conferven werden durch 0,1 Proz. nicht getötet, wohl aber durch 1-proz. Lösung, bei genügender Menge dieser Lösung (siehe nachher) |
| Hydroxylamin (salzsaures) | Maiskeimlinge werden durch 0,01-proz. Lösung getötet (O. Loew); ebenso Helianthuskeimlinge. Fäulnispilze wachsen nicht bei Gegenwart von 0,01 Proz. 0,001 Proz. tötet Diatomeen, 0,005 Proz. Infusorien | Frösche werden durch 0,002—0,005 g Hydroxylamin getötet (Raimund und Bertoni) |

| Bezeichnung der schädlichen (verbindungs-fähigen) Substanz | Verhalten bei großen Verdünnungen | Sonstige Bemerkungen |
|--|--|--|
| Phenylhydrazin | 1 : 50000 tötet Diatomeen, Oscillarien, Rotorien, Infusorien (O. Loew). 0,05 Proz. hindert Pilzentwicklung in guten Nährlösungen | |
| Koffein | 1 Proz. tötet 0,05—0,01 Proz. bewirkt Aggregationserscheinungen, ohne die Zellen zu töten | Für Warmblüter ein relativ schwaches Gift. 0,3 g übt auf den Menschen keine merkliche nachteilige Wirkung |
| Strychnin (Nitrat) | 1 Proz. tötet Infusorien binnen einigen Minuten; 0,1 Proz. tötet erst binnen 10 Minuten; 0,01 Proz. tötet erst binnen 12 Stunden (noch nicht binnen $\frac{1}{2}$ Stunde). Algen werden durch 0,1 Proz. nicht getötet, wohl aber durch 1 Proz. | Die getöteten Infusorien zeigen körnige Trübung |
| Essigsäures Chinin (Chininacetat) | 0,1 Proz. tötet Infusorien binnen 5 Minuten. 0,01 Proz. tötet sie binnen 24 Stunden nicht. 0,25 Proz. verhindert die Keimung von Penicillium-Sporen (Manassein) | Körnige Trübung zeigt die Bildung einer unlöslichen Verbindung mit Plasma-eiweiß an |
| Essigsäures Morphinum (Morphiumacetat) | In 0,1 Proz. bleiben Paramäcien 48 Stunden am Leben. Diatomeen, Cladophoren und Vaucherien sterben zum Teil ab | Morphiumacetat ist weniger schädlich als Chinin, Strychnin |
| Salzsaures Nikotin | 0,1 Proz. tötet Infusorien binnen $\frac{1}{2}$ Stunde nicht, wohl aber binnen 24 Stunden 0,01 Proz. tötet binnen 24 Stunden nicht | |
| Formaldehyd | 0,1 Proz. tötet Infusorien momentan; 0,01 Proz. binnen 5—10 Minuten; 0,001 Proz. läßt sie 3 Tage lang unverändert. Fäulnisbakterien werden durch Konzentration bis zu 0,002 Proz. an der Entwicklung gehindert | Typhusbacillen werden durch 1:20000 getötet, 1:40000 in der Entwicklung geschwächt |
| Aethylaldehyd | 0,02 Proz. tötet Vaucherien und Conferven binnen 24 Stunden 0,1 Proz. hindert die Fäulnis, 0,02 Proz. nicht mehr | Bei sehr großer Verdünnung (0,01 Proz.) ist er ein Nährstoff (C-Quelle) für Schimmel u. Bakterien) |
| Oxybenzaldehyd | Die Ortho-Verbindung hindert bei 0,02 Proz. die Fäulnis, die Para-Verbindung nicht mehr | |
| Paraldehyd | 0,002 Proz. tötet Algen binnen 24 Stunden | |
| Anilinfarben | 0,1 Proz. Diamant-Fuchsin tötet Mikroorganismen; 0,01 Proz. ebenfalls, wenn die Lösungsmenge groß genug ist. Methylviolett verhält sich ähnlich; hier wurde die Abtötung sogar noch mit 0,001 Proz. versucht und erhalten. Aehnlich Viktoria-blau etc. | Man kann alle Stadien der Färbung und die allmähliche Abtötung an Infusorien unter dem Mikroskop verfolgen |
| Gerbstoffe | 1 Proz. Tannin tötet Infusorien augenblicklich; 0,1 Proz. binnen wenigen Minuten (nur die jungen Individuen widerstehen länger). 0,01 Proz. schadet nicht. Katechugersäure und Moringersäure verhalten sich ähnlich | Das Absterben erfolgt unter körniger Trübung. (Gerbstoff-Eiweiß unlöslich) |

oder gar 1 Proz. schädlich ein, so daß man, auch bei Anwendung großer absoluter Mengen des Giftes, die schädliche oder tödliche Wirkung nicht erzielen kann, wenn man sich stärker verdünnter Lösungen des Giftes bedient.

So kann man Infusorien mit schwefelsaurem Mangan nur bei Anwendung 1-proz. Lösung vergiften, 0,1 Proz. ist nicht wirksam.

0,01 Proz. essigsäures Blei ist völlig unwirksam, selbst bei großer Menge der Lösung; 0,1 Proz. tötet Infusorien binnen 10 Minuten.

In den negativen Fällen setzt die Reaktion zwischen Gift und Plasma überhaupt nicht ein, weil die Verdünnung für diese chemische Reaktion zu groß ist. Autoreferat.

Bokorny, Th., Uebereinstimmendes Verhalten der Metalle der Kupfergruppe (Kupfer, Quecksilber, Silber) gegen Zellen niederer Pflanzen. (Chem.-Ztg. 1905. No. 92.)

Im Anschluß an die neulich schon konstatierte Tatsache, daß Quecksilber- und Kupfersalze noch aus den höchstverdünnten Lösungen (wie 1:1 000 000, 1:10 000 000) durch lebende Pflanzenzellen gespeichert werden, suchte Verf. festzustellen, ob und welche andere Metalle sich hier etwa anschließen. Da zeigte sich nun eine merkwürdige Abgrenzung; es sind nur die drei Metalle der Kupfergruppe (Kupfer, Quecksilber, Silber), welche bei so enormen Verdünnungen noch schädlich wirken. Offenbar haben sie die Fähigkeit, noch bei Verdünnung 1:1 000 000 und mehr, mit dem Protoplasmaeiweiß zu reagieren; sie werden dabei unlöslich, worauf dann wieder neue Spuren der Metallsalze in Reaktion treten u. s. w., bis das Schwermetall in einer schädlichen Quantität mit dem Plasma in Verbindung getreten ist. Die übrigen Schwermetallsalze sind nur deswegen nicht so schädlich, weil sie bei großer Verdünnung nicht mehr reagieren. Bleisalze z. B. scheinen bei Verdünnung 1:100 000 nur noch wenig zu reagieren. Nach 4 Tagen sind noch die meisten Zellen am Leben, viele derselben erscheinen sogar ganz normal und scheinen das Gift zu überwinden. Neben den Spirogyren bleiben auch vorhandene Konferven am Leben, desgleichen sieht man lebhaft bewegliche Infusorien. Auch bei weiterem Verweilen in der Bleilösung stirbt die Algenkultur nicht ab; nach 6, ja sogar nach 12 Tagen sind noch die meisten Fäden am Leben. Eisenvitriol scheint noch weniger wirksam zu sein. In Lösung 1:1000 war nach 24 Stunden nur ungefähr die Hälfte der Zellen zweifellos getötet; in Lösung 1:10000 kaum der zwanzigste Teil. Nach 6 Tagen waren auch die Algen der Lösung 1:10000 teilweise abgestorben, aber nicht alle. In Eisenchloridlösung von 1:10000 gingen Spirogyren binnen 12 Stunden nicht zu Grunde; die Fäden zeigten aber eine Neigung, in einzelne Stücke zu zerfallen; nach weiteren 24 Stunden war es ebenso; nach 6 Tagen war eine beträchtliche Anzahl der Zellen abgestorben. Die Eisensalze gehören jedenfalls zu den schwächeren Metallgiften.

Selbst die als recht schädlich bekannten Bleisalze, dann die Uransalze, Zinksalze etc. können sich bei weitem nicht messen an Reaktionsfähigkeit.

Essigsäures Blei tötet in 0,1-proz. Lösung die Infusorien ab, aber nicht augenblicklich; einige schwimmen sogar noch ziemlich lange (10 Minuten) umher; es tritt schließlich eine Trübung des Infusorienleibes ein. Läßt man auf die abgetöteten Infusorien Schwefelwasserstoffwasser einwirken, so tritt eine Braunfärbung ein.

Verdünnt man die Lösung aufs Zehnfache, so ist zunächst keinerlei

Einwirkung zu bemerken, wenn man in dieselbe frische Infusorien bringt. Auch nach einer Viertelstunde hat sich noch nichts geändert. Nach einer weiteren halben Stunde ebenfalls noch nichts. In dieser 0,01-proz. Bleisalzlösung schienen mir die Infusorien sogar nach 26-stündigem Liegen völlig unverändert zu sein; sie bewegten sich ganz normal, gingen ihrer Nahrung nach u. s. w. Auch Cladophoren und Vaucherien sterben nicht vollständig ab in dieser Lösung, desgleichen Diatomeen.

Zink und Cadmium üben auf Infusorien nicht augenblicklich einen tödlichen Einfluß aus, wenn ihre schwefelsauren Salze in 0,1-proz. Lösung einwirken gelassen werden. Bald aber verlangsamen sich die Bewegungen; nach 24 Stunden sind die Infusorien in beiden Lösungen abgestorben, unter körniger Trübung des Infusorienleibes. In 0,01-proz. Lösung der Metallsalze sterben Infusorien binnen 24 Stunden ab. Läßt man sie in 0,001-proz. Zinklösung 24 Stunden liegen, so findet man zwar noch lebende Infusorien vor, aber sie sind von verändertem Aussehen und in ihrer Bewegungsfähigkeit sehr gehemmt. In Cadmiumlösung von 0,001 Proz. waren sie nach 24 Stunden auch schon etwas verändert, aber doch noch von fast ungestörter Beweglichkeit. Nach 3 Tagen zeigten sich in der 0,001-proz. Cadmiumsulfatlösung die Infusorien völlig normal; in der 0,001-proz. Zinksulfatlösung aber waren sie alle abgestorben.

Nun versuchte ich noch 0,0001-proz. Zinksulfatlösung, um die Grenze festzustellen. Hier endlich, bei dieser Verdünnung, schienen die Infusorien keinen Schaden zu nehmen; nach 10 Stunden waren sie noch von unveränderter Beweglichkeit; desgleichen nach 3 Tagen.

Daß Zinksalze von relativ großer Schädlichkeit sind, wurde auch sonst beobachtet.

Nobbe berichtet, daß Zinksalze für Phanerogamen dreimal so giftig seien als Bleisalze. In Nährlösungen, welche 0,02 Proz. Zinksalz enthalten, sterben die Wurzeln dieser Pflanzen bald ab.

Durch Zinkvitriollösung von 0,01 wird *Cladophora* zum Teil getötet (binnen 18 Stunden).

Das Leben der Fäulnispilze wird aber werkwürdigerweise nicht einmal durch 0,1-proz. Zinksulfat gänzlich gehindert. Denn in einer fäulnisfähigen Lösung, welcher 0,1 Proz. Zinksulfat zugesetzt worden war, trat binnen 3 Wochen im Brütöfen Fäulnis ein, während 0,1 Proz. Cadmiumsulfat die Fäulnis verhinderte. Hier ist also Cadmium giftiger als Zink. Aehnlich ist es bei Milchsäurebacillen, deren Gärbarkeit durch 0,015 Proz. Cadmiumsulfat gehemmt wird, während 0,1 Proz. Zinksulfat nicht schädlich wirkt (Ricket, C. r. 114).

0,005 Proz. Cadmiumsalz in der Nährlösung wirkt nach Knop giftig auf Maispflanzen; desgleichen 0,005 Proz. Zinksulfat.

Den Uransalzen wird große Giftigkeit gegen Tiere nachgesagt. Meine Versuche an Infusorien bestätigen das.

Infusorien sterben in 0,1-proz. Lösung sofort ab; sie trüben sich körnig und platzen dann. Auch in 0,01-proz. Lösung stellen die meisten ihre Bewegungen augenblicklich ein (einige junge kleinere Tiere sieht man noch ein paar Minuten langsam umherschwimmen). Selbst in 0,001-proz. Uranlösung stellen die Infusorien binnen wenigen Minuten ihre Bewegungen ein. Nach 24 Stunden sah ich nicht bloß in 0,01-proz., sondern auch in 0,001-proz. Uranacetatlösung sämtliche Infusorien zweifellos abgestorben, unter schwacher Bräunlichfärbung ihres Leibes.

Verdünnt man noch weiter, so daß die Lösung nur 0,0001 Proz.

Uransalz enthält, so ist keine Einwirkung mehr zu bemerken, auch nicht nach 24-ständigem Verweilen der Infusorien in der Lösung.

Nach O. Loew schädigt Uranyl nitrat schon bei 0,05 Proz., noch mehr bei 0,2 Proz. junge Erbsen- und Gerstenpflanzen. 0,01 übt aber keinen schädlichen Einfluß auf dieselben. 0,0002 wirkt (bei sechsmaliger Erneuerung der Lösung) stimulierend (Agric. Tokyo Imperial Univ. Vol. V. No. 2).

0,001-proz. Goldchloridlösung tötet Paramäcien selbst bei 24-stündiger Einwirkung und Anwendung eines Lösungsüberschusses nicht.

Dagegen tötet 0,001-proz. Auflösung von salpetersaurem Silber diese Infusorien fast augenblicklich; mit Schwefelwasserstoff nehmen dieselben dann eine bräunliche Färbung an, während die Lösung selbst farblos bleibt.

Salpetersaures Quecksilber bewirkt, in 0,001-proz. Lösung angewandt, fast augenblicklich Stillstand der Paramäcien.

In Lösung 1:1 000 000 töten die Silber- und Quecksilbersalze natürlich auch noch. Autoreferat.

Bonjean, *Activité de l'eau oxygénée à l'état naissant sur les germes des eaux.* (Semaine médicale 25, 1905, p. 21.)

Am 2. Januar 1905 berichtete B. in der Académie des sciences über Versuche, aus denen hervorgeht, daß vom käuflichen Wasserstoff-superoxyd 0,00291 g nötig sind, um innerhalb 6 Stunden 1 Liter Seiwasser zu sterilisieren, während nur 0,0006 g in statu nascendi aus Calciumperoxyd gebildetes in 4 Stunden die gleiche Wirkung ausüben. Die stärkere Wirkung des H_2O_2 ist auf den Status nascendi zurückzuführen, nicht auf das vorhandene Calcium, das ja bei der chemischen Umsetzung in $CaCO_3$ verwandelt und somit indifferent wird.

H. Ziesché (Breslau.)

Paterno, E. und Cingolani, M. *Nuovo processo di disinfezione delle acque potabili.* (R. Accademia dei Lincei. Serie 5a, Vol. IV.)

Nach einer Uebersicht über die zur Wassersterilisation empfohlenen und angewandten Methoden setzen die Verff. die Resultate auseinander, die sie bei Anwendung des Fluorsilbers zu Sterilisationszwecken erhalten haben; aus letzterem hat Paterno ein Präparat unter dem Namen „Tachiol“ hergestellt und dies zuerst als Desinficiens in der praktischen Chirurgie empfohlen.

Fügten die Verff. dem mit Abwasser verunreinigten römischen Trinkwasser dieses Tachiol in verschiedenen Verhältnissen, von 1 bis 0,02 g pro Liter hinzu, so wollen sie bei Herstellung von Kulturen aus diesem Wasser gefunden haben, daß es vollkommen steril war. Es hätte sich demnach dem Sublimat hinsichtlich der bakteriziden Kraft und der Dauer der Sterilisation als weit überlegen erwiesen.

Ebenfalls steril blieben die Platten, die aus römischem, mit pathogenen Keimen verunreinigtem Trinkwasser hergestellt waren, wenn diesem Tachiol im Verhältnis von 0,0025 Promille hinzugesetzt worden war; nur um die Wirkung des Milzbrandbacillus zu vernichten, war eine Quantität des Silbersalzes von 0,01 Promille erforderlich.

Die Verff. konnten außerdem feststellen, daß die Natur des aufnehmenden Stoffes die desinfizierende Wirkung des Silbersalzes absolut nicht beeinflußt, und daß dieses, in Lösungen von 1:10 000 den Versuchstieren injiziert, keine Störung in ihrem Organismus hervorruft.

Nach Meinung der Verff. ist das mit Tachiol desinfizierte Wasser

dem mittels anderer Verfahren desinfizierten überlegen, weil man bei einer Anwendung des Tachiols von 1:400000 der Zerstörung sämtlicher Keime gewiß ist.
Negri (Pavia).

Kaup und Adam, Die Reinigung der gefährlichen Abwässer einer Zuckerfabrik auf biologischem Wege. (Oesterr.-ungar. Zeitschrift für Zuckerindustrie und Landwirtschaft. 1905. Heft 5.)

Die Grundlage für die Untersuchungen und Betrachtungen der Verf. lieferten die besonderen Verhältnisse, welche bei der Leipnik-Lundenburger Zuckerfabrik im Marchfeld für die Reinigung der Abwässer in Frage kamen.

Hier verbot sich das Proskowetzsche Verfahren infolge der besonderen Untergrundverhältnisse, weswegen das Dunbarsche Oxydationsverfahren zur Grundlage der Einrichtungen gewählt wurde. Die mitgeteilten Untersuchungsergebnisse, welche unter anderem Permanganatverbrauch, Veränderungen der Acidität, der Abdampf- und Glührückstände umfassen, beziehen sich auf das zweite Verwendungsjahr der Einrichtungen, da die Anlage im ersten nicht in erwünschter Weise funktionierte und Fehler zu beseitigen waren.

Allgemein wichtig und auch von den Verf. besonders hervorgehoben ist ihr Schluß, daß man sich bisher bei der Beurteilung der Zuckerfabrikationsabwässer zu sehr an städtische Verhältnisse mit ihren an fäulnisfähigen Eiweißsubstanzen reichen Abwässern gehalten hat. Im Zusammenhang damit messen die Verf. der Abnahme des Permanganatverbrauches eine geringere Bedeutung bei, als diese für stickstoffreiche und kohlenhydratarme Abwässer, wie die der Städte sind, besitzt. Es zeigte sich nämlich, daß die Abnahme des Permanganatverbrauches vom Einlauf bis zum Ablauf stets in geringerem Maße als die Zuckerabnahme erfolgte, was in Uebereinstimmung mit O. Emmerlings Erfahrungen steht, und sich durch die teilweise Umwandlung des Zuckers in stark oxydable Säuren erklärt. Als Ersatz der Permanganatmethode benutzen die Verf. u. a. die Methode Wolf-Degener-Herzfeld zur Bestimmung der mit Wasserdämpfen nicht flüchtigen organischen Substanzen.

Im einzelnen wurde durch die zur Verwendung gelangten Einrichtungen für den Zuckergehalt bereits nach $\frac{3}{4}$ -stündigem Verweilen in den Primärkörpern eine Verminderung um 50—75 Proz. erreicht. Im Ablauf ergab sich völlige Vergärung des Zuckers und damit Hand in Hand eine Erhöhung des Gehalts an flüchtigen organischen Säuren, die als Propionsäure neben geringen Mengen Essig-, Butter-, Ameisensäure und außerdem als Milchsäure charakterisiert wurden. Der Kohlenstoffwert des Zuckers in den Einläufen betrug ungefähr 8—15mal soviel wie der des Eiweißes. Da Nitrate und Nitrite sich in den Abläufen nie fanden, so erscheint eine Oxydation der Eiweißstoffe unwahrscheinlich. Im Anschluß an die beim Einsäuern von Diffusionsschnitzeln eintretenden Verluste und ähnliche Fälle glauben die Verf. auch eine Eiweißfäulnis bei der Zersetzung der Zuckerfabrikabwässer ausschließen zu sollen. Das beobachtete Auftreten von Schwefelwasserstoff ist nicht einer Eiweißfäulnis, sondern einer mit den Kohlehydratgärungen verbundenen Reduktion der Sulfate zuzuschreiben. Für das festgestellte Sinken der Stickstoffwerte vom Einlauf bis zum Ablauf wird nach Winogradsky, Omelianski und Déhérain weitgehende Reduktion vor intermediär gebildeten Nitraten zu freiem Stickstoff angenommen.

Im Ein-, Ueber- und Ablaufwasser fand sich kein gelöster Sauer-

stoff, ein Beweis dafür, daß der Sauerstoff schnell bei den Gärungsprozessen, welche nach den Verff. bei Zersetzung der Zuckerfabrikabwässer vorwiegend in Frage kommen, verbraucht wird, und die Gärung zum Teil anaërob verlaufen dürfte.

Die Oxydierbarkeit der Abwässer mit Permanganat ging durch die Reinigungsmethode um 69 Proz., 70 Proz., 91,4 Proz., 88,4 Proz., 88,4 Proz. zurück.

Es folgen noch Angaben über Wirkung von Klärteichen auf die bei vorliegender Anlage getrennt von den Schnitzelwässern behandelten Rübenwaschwässer, Mitteilungen über die Verunreinigung des Vorfluters durch die gereinigten Abwässer, sowie über die Betriebskosten. Zu erwähnen ist endlich, daß der Gehalt an organischer Säure in den Beschickungswässern das Beschickungsmaterial ziemlich stark, besonders in Bezug auf Eisen und Kalk angreift, und dadurch gelegentliche Auffüllung der Körper notwendig macht.

Ehrenberg (Breslau).

Hofer, Ueber die Vorgänge der Selbstreinigung im Wasser. (Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 47.)

H. hat die Selbstreinigung der Isar und einiger anderer fließender und stehender Gewässer untersucht.

Die Selbstreinigung wird vorbereitet durch die Verdünnung der eingeleiteten Schmutzstoffe, durch ihre allmähliche mechanische Zerkleinerung und Absetzung. Indes verringert sich hierdurch nur die sichtbare Verunreinigung. Die eigentliche Selbstreinigung besteht in chemischen Umwandlungen und in einer Zersetzung der organischen Stoffe durch Lebewesen. Ammoniak und freie Salpetersäure — als Ausdruck der bakteriellen Zerlegung des Stickstoffs — wurden auf der Isar niemals, immer erst nach 12—24 Stunden im Laboratorium nachgewiesen. Auch eine Sauerstoffzehrung in der Isar fehlte. Dagegen wurde fußabwärts Verminderung der Bakterien, besonders der dem freien Wasser fremden, festgestellt. Gleichwohl stiegen die gelösten organischen Stoffe, die gewichtsanalytisch bestimmt wurden, immer mehr an. Die Bakterien sterben also nicht ab, weil sie nicht mehr die genügende Nahrung finden. An ihrer Zahl läßt sich der Grad der Reinigung nicht messen. Vielmehr kommen eine Unzahl Abwässpilze, *Sphaerotilus natans*, *Leptomitus lacteus*, *Penicillium glaucum* hauptsächlich als Zuckerzehrer, ferner Protozoen, Rhizopoden, Flagellaten, Infusorien, dann Schlammwürmer, Insektenlarven und niedere Krustaceen in Betracht, die in zahllosen Mengen den Flußboden durchsetzen und Tausende von Kilogrammen organischer Stoffe täglich zerstören. Die Selbstreinigung ist in der Hauptsache eine Eigenschaft des Bodens. In den stehenden Wässern kommt die Zersetzung im Wasser durch niedere Pflanzen und Tiere hinzu, daher ist die selbstreinigende Kraft dieser Gewässer bedeutend größer. Ihr Ausdruck ist die Produktivität an Fischfleisch. Verf. empfiehlt daher die Einleitung der Abwässer in einfache, mit Pflanzen und Tieren zu besiedelnde Erdteiche.

Georg Schmidt (Berlin).

Eichholz, Ueber die Konservierung der Milch durch Wasserstoffsperoxyd. (Milchwirtschaftliches Centralblatt. 1905. Heft 11.)

Gegen Baumanns Versuche (Münchener med. Wochenschrift 1905. p. 1083) wendet Verf. ein, daß Versuche über bakterizide Wirkung des Wasserstoffsperoxyds nach Budde nur in roher enzymhaltiger Milch durchzuführen sind, während sterilisierte Milch infolge der Abwesenheit

der Enzyme eine geringe Zersetzung des Wasserstoffsperoxyds und damit länger dauernde bakterizide Wirkung des Mittels veranlaßt und so Täuschungen über die Schutzwirkung des Wasserstoffsperoxyds verursachen kann.
Ehrenberg (Breslau).

Eichholz, Das Verhalten der Kuhmilch zu fuchsinschwefeliger Säure und ein Nachweis des Formalins in der Milch. (Milchwirtschaftliches Centralblatt. 1905. Heft 11.)

Verf. wendet sich gegen eine Arbeit Seligmanns (Zeitschrift für Hygiene. Bd. XLIX. Heft 2. p. 325) und hebt ihr gegenüber hervor, daß der Formalinnachweis durch einfachen Zusatz des Reagens zu der zu prüfenden Milch bei Mengen, wie sie für die Praxis in Betracht kommen, nur in frischer Milch prompt auszuführen ist. Im anderen Falle ist Destillation der Milch und Prüfung des Destillats angezeigt.
Ehrenberg (Breslau).

Buhlert und Fickendey, Zur Bestimmung der Salpetersäure im Boden. (Die landwirtschaftlichen Versuchstationen. 1905. p. 239.)

Verff. weisen einige Fehlerquellen in der üblichen Bestimmung der Salpetersäure im Boden nach, bei der lufttrockener Boden 48 Stunden lang mit Wasser geschüttelt wird. Einerseits kann die Salpetersäure bei dem Trocknungsprozesse eine erhebliche Vermehrung erfahren, weil die nitrifizierenden Bakterien dabei günstige Lebensbedingungen finden. So erhöhte sich z. B. der Gehalt an Salpeterstickstoff bei einem Gartenboden von 8,10 mg auf 19,50 mg pro 1 kg bei 100° getrocknetem Boden. Andererseits ist die Schütteldauer von 48 Stunden zu lang, weil während dieser Zeit schon ein Teil der Salpetersäure verschwindet. Die Abnahme der Salpetersäure erfolgt schneller bei Benutzung an der Luft getrockneten Bodens (z. B. innerhalb 96 Stunden von 17,92 mg auf 1,02 mg N berechnet pro 1 kg bei 100° getrocknetem Boden) als bei Anwendung frischer Erde (z. B. innerhalb 98 Stunden von 8,02 mg N auf 4,03 mg N pro 1 kg bei 100° getrocknetem Boden). Bakteriologisch ist diese Erscheinung so zu deuten, daß aërobe [Denitrifikations-(?)] Bakterien, die ihren Sauerstoffbedarf auch aus dem Sauerstoff der Salpetersäure zu decken vermögen, sich bei der Trocknung erheblich vermehren.

Verff. zeigen, daß eine Schüttelzeit von einer halben Stunde genügt, um die Salpetersäure restlos auszuziehen, und schlagen schließlich folgende Methode vor: Von einer größeren dem Felde entnommenen und gut gemischten Probe werden 2 kg in frischem Zustande mit 2—3 l Wasser übergossen. In Zwischenpausen von ca. 5 Min. wird je $\frac{1}{4}$ Min. lang geschüttelt. Nach höchstens 30 Min. läßt man etwas absitzen und filtriert durch ein Faltenfilter. Von dem Filtrate werden je 400—500 ccm unter Zusatz einiger Tropfen Natronlauge eingedampft und zur Analyse nach Schlösing verwandt. Bei schwer filtrierbaren Böden ist nach einem Vorschlage von Dr. Krüger 2 Proz. Kochsalz zur Klärung zuzufügen.
Fickendey (Königsberg).

Böttcher, Wirkt Didymchlorid, ein neues Desinfektions- und Konservierungsmittel, schädlich auf die Pflanzenproduktion? (Deutsche landwirtschaftliche Presse. 1905. No. 90.)

Durch Auffindung großer Lager von Didymverbindungen kann Didymchlorid, das geruchlos, kaum giftig und dabei stark bakterizid sein soll, sehr billig geliefert werden, und kommt als gelbbraune, 25—30-proz. Flüssigkeit in den Handel. Für Fäkaldesinfektion erzielte das neue Mittel in Verdünnung von ca. 2 Proz. und Zusatz von 3 l zu 200 l

Fäkaljauche unter Bildung eines starken Bodensatzes anscheinend recht guten Erfolg.

Es waren 0,02 Proz., 0,05 Proz. und 0,1 Proz. Didymchloridlösungen ohne Wirkung auf Keimfähigkeit wie Keimungsenergie bei Haferkörnern, kleine Schädigungen traten bei 0,2-proz. Lösung ein, und 0,5—1 Proz. wirkten stark nachteilig. Die letztgenannten Konzentrationen kommen aber für die praktische Verwendung zur Fäkaldesinfektion nicht in Betracht. Auch Vegetationsversuche mit Didymchlorid und Fäkaljauche ergaben, daß man dies Mittel unbedenklich zur Fäkaldesinfektion verwenden kann, da dasselbe in den hierbei in Betracht kommenden Mengen für die Entwicklung der Pflanzen absolut unschädlich ist.

Ehrenberg (Breslau).

Schalk, Bekämpfung der Kiefernscütte. (Forstwissenschaftl. Centralblatt. Bd. XXVII. 1905. p. 561—570, mit 1 Tafel.)

Das vom Verf. verwaltete Revier (Rehau in Bayern) ist sehr von der Scütte heimgesucht und bietet daher Gelegenheit zu Versuchen im angegebenen Sinn. Es ergaben sich dabei folgende beachtenswerte Resultate:

1) Während Tausende im Revier selbst gezogene und ins Freie versetzte Kiefern ausnahmslos der Scütte zum Opfer fielen, gingen solche, die von auswärts (Halstenbeck und Gotha) bezogen worden waren, eben so ausnahmslos an, ohne unter Scütte zu leiden.

2) Mit Kiefern eigener Saat, die bisher stets verloren waren, machte Verf. die Erfahrung, daß selbst in dem so stark verseuchten Gebiet die Bespritzung mit Bordelaiser Brühe von günstigem Erfolg begleitet ist.

3) Die Bespritzung kann in Forstgärten ersetzt werden durch zweckmäßige Düngung (Phosphorsäure, Kalk, Kali und Stickstoff). Offenbar werden die Pflanzen durch die kräftige Ernährung in den Stand gesetzt, dem Angriff des Pilzes zu widerstehen.

Neger (Tharandt).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines.

Dritter Jahresbericht des kais. Biologisch-Landwirtschaftlichen Instituts Amani für das Jahr 1904/05. Aufgestellt von Prof. A. Zimmermann. (Ber. üb. Land- u. Forstwirtsch. in Deutsch-Ostafrika. Bd. II. 1906. Heft 7. p. 375—446.)

Guénaux, G., Zoologie agricole. Paris 1905. 500 p. 8°. M. Fig. 4,50 M.

Günther, Carl, Einführung in das Studium der Bakteriologie, mit besonderer Berücksichtigung der mikroskopischen Technik. Für Aerzte und Studierende der Medizin. 6. verm. u. verb. Aufl. Leipzig (Thieme) 1906. 904 p. 8°. 93 Photogramme. 13 M.

Hansen, Emil Christian, Betrachtungen über technische Mykologie. 1. (Wechschr. f. Brauerei. Jg. XXIII. 1906. N. 5. p. 54—57. [Journ. of the Inst. of brewing 1905. Bd. II.]

—, Betrachtungen über technische Mykologie. Rede. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXIX. 1906. N. 8. p. 109—113.)

Hiltner, L., Vorläufiger Bericht über die Tätigkeit der K. Agrikultur-botanischen Anstalt im Jahre 1905. [Schluß.] (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau und -schutz. Jg. IV. 1905. Heft 2. p. 13—16.)

Jahrbuch der Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin. Bd. VIII. 1905. Ergänzungsband z. Wechschr. f. Brauerei, hrsg. v. M. Delbrück, redig. v. W. Windisch. Berlin (Parey) 1905. 607 p. 8°.

Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den pathogenen Mikroorganismen, um-

Zweite Abt. Bd. XVI.

18

- fassend Bakterien, Pilze und Protozoen. Unter Mitwirkung von Fachgenossen bearb. u. hrg. von P. v. Baumgarten u. F. Tangl. Jg. XIX. Leipzig (Hirze) 1905. XII, 1220 p. 8°. 36 M.
- Müller-Thurgau, H.**, Bericht der Schweizerischen Versuchsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau in Wädenswil für die Jahre 1903 und 1904. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. Jg. XIX. 1905. Heft 9. p. 561—641.)
- Schütte, H.**, Insektenbüchlein. Die wichtigsten Feinde und Freunde der Landwirtschaft aus der Klasse der Insekten. Mit einem Anhang: Die Malaria und die Anophelesmücke. 2. Aufl. Stuttgart (Lutz) 1905. 240 p. 8°. 40 Taf. u. 47 Fig. 2,50 M.
- Smith, B. Greig**, Bakteriologisches Laboratorium der Linnean Society of New South Wales. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1906. N. 25. p. 733—737.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

- Babucke**, Zur schnellen Filtration des Nähragars. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1906. Heft 4. p. 607—608.)
- Brunner, Jerzy**, Przyczynek do hodowli beztlenowców. (Kultur der Anaëroben.) (Gaz. lekarsk., Warszawa. 25. 1905. p. 403—409.)
- Epstein, Albert A.**, On the use of egg albumin in the technic of staining the capsules of bacteria. (Med. News. Vol. LXXXVII, 1905. N. 25. p. 1181—1182.)
- Guerbet**, Nouvelle méthode de séparation et de dosage des acides lactique et succinique. (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 4. p. 168—170.)
- Guillemond, Alfred**, La culture des microbes anaërobes, appliquée à l'analyse des eaux. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XX. 1906. N. 2. p. 155—160. 1 Fig.)
- Kafka, Viktor**, Ueber die praktische Leistungsfähigkeit verschiedener Methoden der Agglutinationstechnik. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1906. Heft 4. p. 548—561.)
- Levaditi**, A propos de l'imprégnation au Nitrate d'argent des Spirochètes sur coupes. (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 2. p. 67—68.)
- Levaditi et Manouélian**, Nouvelle méthode rapide pour la coloration des Spirochètes sur coupes. (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 3. p. 134—136.)
- Loeffler, F.**, Der kulturelle Nachweis der Typhusbacillen in Faeces, Erde und Wasser mit Hilfe des Melachitgrüns und die Verwendung von Melachitgrün-Nährböden zum Nachweise und zur Differentialdiagnose der Typhusbacillen und verwandter Bakterienarten. (Dtsche med. Wehnschr. Jg. XXXII. 1906. N. 8. p. 289—295.)
- May, Richard**, Eine neue Methode der Romanowsky-Färbung. (München. med. Wehnschr. Jg. LIII. 1906. N. 8. p. 358—359.)
- Michaelis, Leonor**, Ueber einige Eigenschaften der freien Farbbasen und Farbsäuren. (Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. Bd. VIII. 1906. Heft 1/2. p. 38—50.)
- Moore, V. A.**, Laboratory directions for beginners in bacteriology. 3. edition enlarged. Boston 1905. 23 u. 151 p. M. Fig. 8°. 5 M.
- Müller, Erich**, Ein Apparat zum Kochen oder Pasteurisieren von Kindermilch. (Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. LXII. 1905. Heft 6. p. 825—827. 1 Fig.)
- Noc, F.**, Technique de Microbiologie tropicale. Paris 1905. 320 S. 74 Fig. 8°. 3,50 M.
- Salomon**, Ueber bakteriologische Regierungslaboratorien. (Hyg. Rundsch. Jg. XVI. 1906. N. 1. p. 1—4.)
- Spiegel, Otto**, Bakterienfärbung mit eosinsaurem Methyleneblau nach May-Grünwald. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1906. Heft 3. p. 430—431.)
- Spitta und Imhoff**, Apparate zur Entnahme von Wasserproben. (Mitt. a. d. k. Prüfungsanstalt f. Wasserversorg. u. Abwässerbeseitig. Berlin. 1906. Heft 6. p. 75—87.)
- Steinbrück**, Führungseinlage für Trichinenschaukompressorien. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XVI. 1906. Heft 5. p. 152—153.)
- Stewart, A. H.**, A new colony counter and dissecting microscope. (Journ. of med. research. Vol. XIV. 1906. N. 2. p. 423—429. 1 Fig.)
- Zettnow**, Geißeln bei Hühner- und Recurrens-Spirochäten. (Dtsche med. Wehnschr. Jg. XXXII. 1906. N. 10. p. 376—377.)

Systematik, Morphologie.

- Ariola, V.**, I Cestodi e la metagenesi. (Atti soc. ligustica sc. nat. e geograf. Vol. XVI. 1905. 7 p.)
- Baer, W.**, Lophyrus similis Htg. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. Jg. IV. 1906. Heft 2. p. 84—92. 10 Fig.)
- Banks, Nathan**, A treatise on the Acarina, or mites. (Proc. of the U. St. Nat. Mus. Vol. XXVIII. 1905. p. 1—114. 201 Fig.)
- Bargagli-Petrucci, G.**, Il microzoocidio. (Nuovo Giorn. bot. Ital. N. S. Vol. XII. 1906. N. 4. p. 705—722. 4 Fig.)
- Bergamasco, G.**, Basidiomiceti ed Ascomiceti. Elencati dall' Autore durante la stazione

- primaverile del 1905 nella selva dei Camaldoli, collina presso Napoli di 450 metri di altezza. (Nuovo Giorn. bot. Ital. N. S. Vol. XII. 1905. N. 4. p. 652—656.)
- Berlese, A.**, Sopra una nuova specie di Mucedinea parassita del *Ceroplastes rusci*. Firenze (Redia) 1906. 15 p. 1 Taf. u. 3 Fig. 2 M.
- Blackman, V. H.**, Congored as a stain for Uredineae. (New Phytol. Vol. IV. 1905. p. 173—174.)
- Blanchard, E.**, Parasitologie. Spirilles, spirochaetes et autres microorganismes à corps spiralé. (Semaine méd. Année XXVI. 1906. N. 1. p. 1—5.)
- Blakeslee, A. F.**, Two Conidia bearing Fungi, *Cunninghamella* and *Thamnocephalus* n. g. (Bot. Gaz. Chicago. Vol. XL. 1905. p. 161—170. 1 Taf.)
- Blumentritt, Fritz**, *Aspergillus bronchialis* Blumentritt und sein nächster Verwandter (*Aspergillus fumigatus* Fres.) (Ber. d. Dtschn. bot. Ges. Bd. XXIII. 1905. Heft 9. p. 419—427. 1 Taf.)
- Borrel, A.**, Cils et division transversale chez le Spirille de la poule. (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 3. p. 138—141. 2 Fig.)
- Bourquin, J.**, Cestodes de Mammifères: Le genre *Bertia*. (Revue Suisse de Zool. T. XIII. Fasc. 2. 3 Taf.)
- Brasil, Louis**, *Eleutheroschizon duboscqui*, sporozoaire nouveau parasite de *Scoloplos armiger* O. F. Müller. (Arch. de Zool. expér. et gén. Sér. 4. T. IV. 1906. N. 2. Notes et revue. S. XVII—XXII.)
- Brassola, F.**, Significato dei Batteri termofili, di quelli della putrefazione e del gruppo coli nell' esame batteriologico delle acque. Bologna 1905. 6 p. 4°. (Mem. Accad.) 1 M.
- Brefeld, Oskar**, Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie. Fortsetzung der Schimmel- u. Hefenpilze. 13. Heft: Brandpilze (Hemibasidii). 4. (Forts. d. 5. 11. u. 12. Heftes.) Münster (Schöningh) 1905. 75 p. 8°. 10 M. Heft 13: **Brefeld, Oskar** und **Falek, E.**, Die Blüteninfektion bei den Brandpilzen und die natürliche Verbreitung der Brandkrankheiten. 2 Taf.
- Brevière, L.**, Contribution à la flore mycologique de l'Auvergne. [Suite.] (Bull. Acad. Internat. Géogr. Bot. Sér. 3. T. XIV. 1905. p. 237—252.)
- Briosi, G. e Cavara, F.**, I funghi parassiti delle piante coltivate od utili essiccati, delineati e descritti. Fasc. 16. Pavia 1905. 4°. M. Fig. 10 M.
- Brumpt, E.**, Sur quelques espèces nouvelles de Trypanosomes, parasites des poissons d'eau douce; leur mode d'évolution. (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 4. p. 160—162.)
—, Mode de transmission et évolution des Trypanosomes des poissons. Description de quelques espèces de Trypanoplasmes des poissons d'eau douce. — Trypanosome d'un Crapaud africain. (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 4. p. 162—164.)
- Bucholts, Fedor**, Verzeichnis der bisher in den Ostseeprovinzen Rußlands bekannt gewordenen *Puccinia*-Arten. (Ann. mycologici. Vol. III. 1905. N. 5. p. 437—466.)
- Bütschli, O.**, Bemerkung zu der Mitteilung von F. Schaudinn über *Spirochaeta pallida*. (Dtsche med. Wehnschr. Jg. XXXII. 1906. N. 2. p. 71—72; nebst Bemerkung von Schaudinn. ib. p. 72.)
- Caulery, Maurice et Messnil, Félix**, Recherches sur les Haplosporidies. (Arch. de Zool. expér. et gén. Sér. 4. T. IV. 1905. N. 3. p. 101—181. 3 Taf.)
- Caulery, Maurice et Chappellier, Albert**, *Anurosporidium pelseeneeri*, n. g. n. sp., Haplosporidie infectant les sporocystes d'un Trematode parasite de *Donax trunculus* L. (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 7. p. 325—328. 4 Fig.)
- Cépède, Casimir**, Sur une microsporidie nouvelle, *Pleistophora macrospora*, parasite des leches franches du Dauphiné. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXLII. 1906. N. 1. p. 56—58.)
—, *Myxidium Giardi Cépède*, et la prétendue immunité des Anguilles à l'égard des infections myxosporidiennes. (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 4. p. 170—173. 4 Fig.)
- Clinton, G. P.**, The Ustilagineae, or smuts, of Connecticut. (Connect. Geol. nat. hist. Surv. Bull. Vol. V. 1905. p. 1—45.)
- Cohn, Ludwig**, Zur Anatomie zweier Cestoden. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XL, 1906. Heft 3. p. 362—367. 4 Fig.)
- Constantineanu, J. C.**, Sur deux nouvelles espèces d'Urédinées. (Ann. sc. Univ. Jassy. T. III. 1905. p. 127—150.)
- Cruchet, P.**, Quelques Urédinées de la vallée de Binn, récoltées lors de l'excursion de juillet 1903. (Bull. Mucith. soc. Valais. sc. nat. T. XXXIII. 1904. p. 50—52.)
- Doziel, V.**, Beiträge zur Kenntnis der Gregarinen. 1. *Cystobia chiridotae* n. sp. (Arch. f. Protistenkunde. Bd. VII. 1906. Heft 1. p. 106—130.)
- Dutertre, E.**, Note sur un Schizomycète, parasite de Diatomées. (Microgr. Prép. T. XIII. 1905. p. 180—182.)
- Edens**, Ueber *Oxyuris vermicularis* in der Darmwand. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1905. Heft 4. p. 499—500. 1 Fig.)
- Farlow, W. G.**, Bibliographicae index of North American Fungi. Vol. I. P. I. *Abrothallus* to *Badhamia*. Washington (Carnegie Institut) Sept. 1905. XXXV, 312 p. 8°.

- Farneti, Rodolfo**, Erpete furfacea delle pere (*Macrosporium Sydowianum* n. sp.). (Ann. mycologici. Vol. III. 1905. N. 5. p. 433—436. 5 Fig.)
- Froggatt, Walter W.**, Domestic insects; mosquitoes. (Agricult. Gaz. of New South Wales. Vol. XVI. 1905. P. 11. p. 1082—1087. Taf.)
- Fuhrmann, Frans**, Die Kernteilung von *Saccharomyces ellipsoideus* I. Hansen bei der Sproßbildung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1906. N. 25. p. 709—717. 1 Taf.)
- Gabotto, L.**, Di un ifomicete parassita della vite. (Nuovo Giorn. bot. Ital. Vol. XII. 1905. N. 4. p. 488—493. 4 Fig.)
- Gilbert, N. C.**, Occurrence of *Echinostomum spinulosum* Rud. (American Naturalist. Vol. XXXIX. 1905. N. 468. p. 925—927. 1 Fig.)
- v. Höhnelt, Frans**, Mykologische Fragmente. (Ann. mycologici. Vol. III. 1905. N. 5. p. 402—409. 4 Fig.)
- , Mykologische Fragmente. (Ann. Mycologici. Vol. III. 1905. N. 6. p. 548—560. 7 Fig.)
- Hüttemann, Walter**, Beiträge zur Kenntnis der Bakterienflora im normalen Darmtraktus des Rindes. Straßburg i. E. 1905. 48 p. 8°. Diss. vet.-med. Bern, 1904/05.
- Issel, R.**, Commensali e parassiti; prelezione al corso di parasitologia nell' Università di Modena. Genova. tip. Ciminago 1905. 31 p. 8°.
- Iverus, J.**, Sur un Cestode du *Rhombus maximus*. (Compt. rend. des séances du 6. Congrès internat. de Zool. Berne 1904. ersch. Bâle 1905. p. 702—703.)
- Jaap, Otto**, Beiträge zur Pilzflora von Mecklenburg. (Ann. mycologici. Vol. III. 1905. N. 5. p. 391—401.)
- Jacobesco, Nicolas**, Nouveau champignon parasite, *Trematovalsa matruchoti*, causant le chancre du Tilleul. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLII. 1906. N. 5. p. 289—291.)
- Jammes, L. et Mandoul, H.**, Ténias et flore intestinale. (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 5. p. 229—230.)
- Klaskalt, Karl**, Blutparasiten bei Fledermäusen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1905. Heft 2. p. 213—217.)
- Koch, R.**, Ueber die Unterscheidung der Trypanosomenarten. (Sitzungsber. d. K. Preuß. Akad. Wiss. 45/47. 1905. p. 958—962.)
- , Nochmals die Spinnmilbe *Tetranychus ununguis* Jac. an Fichte. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. IV. 1906. Heft 2. p. 100.)
- Klee**, Die Vogelmilbe. (Fühlings landw. Ztg. Jg. LV. 1906. Heft 3. p. 98—103. 5 Fig.)
- Kulagin, N.**, Der Kopfbau bei *Culex* und *Anopheles*. (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXXIII. 1905. p. 285—335.)
- Laengner, Hans**, Ueber *Pentastomum denticulatum* beim Menschen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1906. Heft 3. p. 368—371.)
- Liebetanz, Erwin**, Die parasitischen Protozoen des Wiederkäuermagens. Bern 1905. 84 S. 8°. Diss. phil. Bern 1904/05.)
- Lind, J.**, Ueber einige neue und bekannte Pilze. (Ann. mycologici. Vol. III. 1905. N. 5. p. 427—432. 2 Fig.)
- v. Linstow**, Helminthen aus Ceylon und aus arktischen Breiten. (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXXII. 1905. p. 182—193.)
- Linton, Edwin**, Notes on Cestode cysts, *Taenia chamissoni*, new species, from a porpoise. (Proc. of the U. St. Nat. Mus. Vol. XXVIII. 1905. p. 819—822. 1 Taf.)
- Löhnis, F.**, *Bacterium agreste* n. sp. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1905. Heft 2. p. 177—180.)
- Ludlow, C. S.**, The Distribution of mosquitos in the United States. Med. Record. Vol. LXIX. 1906. N. 3. p. 95—98.)
- Magnus, P.**, Notwendige Umänderung des Namens der Pilzgattung *Marssonia* Fisol. (Hedwigia Bd. XLV. 1906. Heft 2. p. 88—91.)
- Marsais, P.**, Attelabe on cigareur. (Rev. de viticult. Année XIII. 1906. N. 637. p. 229—232. 1 Taf.)
- Maurizio, A.**, Studien über Milben der Familie Tyroglyphinae, die in Futter- und Nahrungsmitteln leben. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. Jg. XIX. 1905. Heft 10. p. 739—762.)
- Mégnin, Pierre**, Sangsues parasites des palmipèdes. (Arch. de parasitol. T. X. 1905. N. 1. p. 71—76. 4 Fig.)
- Mesnil, F. et Caullery, M.**, Sur le développement des ovules et les larves ciliées d'un Orthonectide hermaphrodite (*Ropalura pelseneeri* Caull. et Mesn.). (Compt. rend. soc. biol. T. LIX. 1905. N. 32. p. 428—430. 2 Fig.)
- Minchin, E. A. and Fantham, H. B.**, *Rhinosporidium kinealyi* n. g., n. sp., a new Sporozoon from the mucous membrane of the septum nasi of man. (Quart. Journ. of microsc. sc. N. Ser. 1905. N. 195. p. 521—532. 2 Taf.)
- Mrázek, Al.**, Ueber *Taenia acanthorhyncha* Wedl. (Ein Beitrag zur Kenntnis der Gattung *Taenia* Kowalevsky.) Sitzungsber. Böhm. Ges. Wiss. 1905. 24 p. 2 Taf. u. 7 Fig. —, 80 M.
- Neuman, L. G.**, Treatise on the parasites and parasitic diseases of domestical animals. Translated by G. Fleming. Revised edition by J. Macqueen. London 1905. 714 S. 8°. M. Fig. 21,50 M.

- Noalli, Alberto**, Contribuzione allo studio dei micromiceti del Piemonte. (Malpighia. Anno XIX. 1905. Fasc. 6—8. p. 329—372.)
- Nüsslin, O.**, Der Fichtenborkenkäfer (*Tomicus typographus* L. im Jahre 1905 in Herrenwies und Pfullendorf. (Nachwort.) (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. IV. 1906. Heft 1. p. 4—22.)
- Peglion, V.**, Sulla presenza in Italia del *Cystopus lepigoni*. (Accad. sc. med. nat. Ferrara. 1905. 3 p.)
- Pérez, Ch.**, Microsporidies parasites des crabes d'Arcachon. (Note prélim.) (Bull. Stat. biol. d'Arcachon. Année VIII. 1904—1905. 22 p. 14 Fig.)
- Porta, Antonio**, Gli Echinorinchi dei pesci. (Archiv. zool. Vol. II. 1905. Fasc. 2. p. 149—214.)
- Popovici-Banosanu, A.**, Sur l'hématozoaire de *Testudo ibera* (*T. mauritanica*, *T. pusilla*). (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1905. N. 4. p. 173—174.)
- Quehl, Alfred**, Untersuchungen über die Myxobakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1906. N. 1/3. 1 Taf. u. 3 Fig. p. 9—34.)
- Rehm, Ascomycetes** exs. Fasc. 35. (Ann. mycologici. Vol. III. 1905. N. 5. p. 409—417.)
- Rehm, H.**, Ascomycetes Americae borealis. III. (Ann. Mycologici. Vol. III. 1905. N. 6. p. 516—520.)
- Rodella, Antoine**, Sur la différenciation du „*Bacillus putrificus*“ (Bienstock) et des bacilles anaérobies tryptobutyriques (Achalme). (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XIX. 1905. N. 12. p. 804—811.)
- Roos, E.**, Die im menschlichen Darne vorkommenden Protozoen und ihre Bedeutung. (Med. Klinik. Jg. I. 1905. N. 52. p. 1328—1330. 8 Fig.)
- Ross, E.**, Note on a Flagellate Parasite found in *Culex fatigans*. (Journ. of hyg. Vol. LX. 1906. N. 1. p. 96—97.)
- Rosenblat, Stephanie**, Zur Kenntnis der zur Gruppe der Tuberkelbacillen gehörenden säurefesten Mikroorganismen. (Flora od. Allg. bot. Ztg. Bd. XCV. 1905. Heft 2. p. 412—467.)
- Rostrup, E.**, Mykologiske Meddelelser (9). Spredte Jagttagelser fra 1899—1903. (Bot. tidskrift. Binds 26. Hefte 3. 1905. p. 305—315. 7 Fig.)
- Saccardo, P. A.**, Notae mycologicae. Series VI. Fungi Passeriniani, Fungi belgici. *Mycetes varii*. (Ann. Mycologici. Vol. III. 1905. N. 6. p. 505—516.)
- Salmon, Ernest S.**, On the variation shown by the conidial stage of *Phyllactinia corylea* (Pers.) Karst. 1. (Ann. Mycologici. Vol. III. 1905. N. 6. p. 493—505. 3 Taf.)
- Sander, L.**, Die Tssetsen (Glossinae Wiedemann). Leipzig 1905. 79 p. 8°. 1 Taf. u. 25 Fig. (Arch. f. Tropenhyg.) 2,40 M.
- Schaaf, Heinrich**, Zur Kenntnis der Kopfanlage der Cysticerken, insbesondere des *Cysticercus* der *Taenia solium*. (Zool. Jahrb. Abt. f. Anat. u. Ont. d. Tiere. Bd. XXII. 1905. Heft 3. p. 435—476. 2 Taf. u. 13 Fig.)
- Schneider, Otto**, Experimentelle Untersuchungen über schweizerische Weidenrostpilze. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. N. 1/3. p. 74—93.)
- Schwartz, Martin**, Die wichtigsten im Getreide und Futtermehl vorkommenden Käfer. (Mitt. d. Dtschen landw. Ges. Jg. XXI. 1906. Stück 6. p. 46—48. 11 Fig.)
- Sergent, Edmond et Etienne**, Sur un Flagellé nouveau de l'intestin des *Culex* et des *Stegomyia*, *Herpetomonas algeriense*. Sur un autre Flagellé et sur des *Spirochaete* de l'intestin des larves de Moustiques. (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 6. p. 291—293. 2 Fig.)
- Sievers, E.**, Till kändedom om förekomsten af intestinalparasiter hos människan i Finland. (Finska läkaresällskapet Handlingar. Bd. XLVIII. 1906. N. 1. p. 39—79. 1 Karte. [Verbreitung d. *Botrioceph. lat.*].)
- Spengel, J. W.**, Die Monozootie der Cestoden. (Ztschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXXII. p. 252—287.)
- Starbäck, Karl**, Ascomyceten der schwedischen Chaco-Cordilleren-Expedition. (Arkiv för Bot. Bd. V. 1905. Heft 1/2. N. 7. 34 p. 1 Taf.)
- Stiles, Ch. Wardell and Goldberger, Joseph**, A young stage of the American kookworm — *Necator americanus* (Stiles 1902) — 8 to 12 days after skin infection in rabbits and dogs. (American Medicine. Vol. XI. 1906. N. 2. p. 63—65. 6 Fig.)
- Thesing, Curt**, *Spirochaete*, *Spironema* oder *Spirillum*? (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1906. Heft 3. p. 351—356.)
- Tjenk Willink, H. D.**, De „Songkeat“, een Vischparasiet. (Natuurkundig tijdschr. voor Nederl. Indie. Del 64. 1905. p. 156—161.)
- Trotter, A.**, Nuove ricerche sui micromiceti delle galle e sulla natura dei loro rapporti ecologici. (Ann. Mycologici. Vol. III. 1905. N. 6. p. 521—547. 8 Fig.)
- Tubeuf**, Notizen über die Vertikalverbreitung der *Trametes pini* und ihr Vorkommen an verschiedenen Holzarten. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. IV. 1906. Heft 2. p. 96—100.)

- Vestergren, Tycho**, Monographie der auf der Leguminosen-Gattung *Bauhinia* vorkommenden *Uromyces*-Arten. (Arkiv för Bot. Bd. IV. 1905. Heft 4. p. 1—34. 2 Taf.)
- Viala, P. et Pacottet, P.**, Nouvelles recherches sur l'anthraxose. Levures, kystes, formes de reproduction et de conservation du „*Manginia ampelina*“. 2. Kystes. (Rev. de viticult. Année XII. T. XXIV. 1905. N. 624. p. 601—608. 1 Taf. u. Fig.)
- —, Nouvelles recherches sur l'anthraxose. (Suite.) (Rev. de viticult. Année XII. T. XXIV. 1905. N. 626. p. 657—663. 50 Fig.)
- Volpino, G.**, Ueber die Bedeutung der in den Negrischen Körpern enthaltenen Innenkörperchen und ihren wahrscheinlichen Entwickelungsgang. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXVII. 1905. N. 15/17. p. 459—463. 1 Taf.)
- Vuillemin, P.**, Recherches sur les Champignons parasites des feuilles de Tilleul. (*Cercospora*, *Phyllosticta*, *Helminthosporium*). (Ann. mycologici. Vol. III. 1905. N. 5. p. 421—426. 15 Fig.)
- Wellman, Frederick Creighton**, Notes on the common mosquitoes of Bihé and Bailundo districts, portuguese West Africa. (Journ. of infect. dis. Vol. II. 1905. N. 4. p. 627—631. 5 Fig.)
- Wigman, H. J.**, Aard-bacteries in betrekking tot den Landbouw. (*Teysmannia*. Vol. XVII. 1905. p. 490—496.)
- Wilson, Charles Branch**, North American parasitic Copepods belonging to the family *Caligidae*. (Proc. of the U. St. Nat. Mus. Vol. XXVIII. 1905. p. 479—672. 25 Taf. u. 50 Fig.)
- Wilson, J. T.**, On the fate of the *Taenia clinooitalis* (Gaupp) in *Echidna* and in *Ornithorhynchus* respectively; with demonstration of specimens and stereophotographs. (Journ. of Anat. and Physiol. Vol. XL. 1906. P. 2. p. 85—90. 3 Fig.)
- Wolfhügel, K.**, *Prosthogonimus cuneatus* (Rud.) aus einem Hühnerrei. (*Ztschr. f. Infektionskr. d. Haustiere*. Bd. I. 1905. Heft 1. p. 21—25.)
- Wurth, Theophil**, Rubiaceen bewohnende Puccinien vom Typus der *Puccinia galii*. Jena 1905. 27 p. 8°. Diss. phil. Bern, 1904/1905.
- Zschokke, F.**, Das Genus *Pochoristica* Lühe. (*Ztschr. f. wiss. Zool.* Bd. LXXXIII. 1905. p. 53—67. 1 Taf.)

Biologie (Gärung, Fäulnis, Stoffwechselprodukte etc.).

- Almquist, Ernst**, Kultur von pathogenen Bakterien in Düngestoffen. (*Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr.* Bd. LII. 1906. Heft 2. p. 179—198.)
- Bernard, Noel**, Symbioses d'Orchidées et de divers champignons endophytes. (*Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLII.* 1906. N. 1. p. 52—54.)
- Bettges und Heller**, Zur *Sarcina*-frage. (*Wehnschr. f. Brauerei.* Jg. XXII. 1906. N. 7. p. 69—74.)
- Blackman, Vernon H. and Fraser, Helen C. J.**, Further studies on the sexuality of the Uredineae. (*Ann. of botany.* Vol. XX. 1906. N. 77. p. 35—48. 2 Taf.)
- Blanchard, B.**, Substances toxiques produites par les parasites animaux. (*Arch. de parasitol.* T. X. 1905. N. 1. p. 84—104.)
- Bode, G.**, Die Einwirkung des Lichtes auf keimende Gerste und Grünmalz. (*Ztschr. f. Spiritusind.* Jg. XXIX. 1906. N. 2. p. 9—10.)
- Boekhout, F. W. J. und de Vries, J. J. Ott**, Ueber die Selbsterhitzung des Heues. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 17/18. p. 568—573.)
- Boulanger, Em.**, Germination de la spore échinulée de la truffe. (*Compt. rend. soc. biol.* T. LX. 1906. N. 2. p. 42—43.)
- Brasil, Louis**, Nouvelles recherches sur la reproduction des grégaires monocystidées. (*Arch. de zool. expér. et gén. Sér. 4. T. IV.* 1905. p. 69—100. 2 Taf.)
- Brauer, Ernst**, Die Schaumgärungstheorie unter neuen Gesichtspunkten nach den Ergebnissen der modernen Forschung auf dem Gebiete der Physiologie und Enzyme. Ein neues Kapitel zur Geschichte und Kenntnis der Schaumgärung, und ihrer Bekämpfung. Gleichzeitig ein Mahnwort an die Kartoffelbauer. Nach erschöpf. Versuchen bearb. Leipzig 1906. 32 p. 8°. —, 50 M.
- Brown, Adrian J.**, Ueber die Einflüsse, die die Vermehrung der Hefe (*Saccharomyces cerevisiae*) regeln. (*Wehnschr. f. Brauerei.* Jg. XXII. 1905. N. 52. p. 779—784. [*Journ. chem. Soc.* 1905.])
- Brown, Andrian, J.**, The influence regulating the reproductive functions of *Saccharomyces cerevisiae*. (*Journ. chem. Society.* T. LXXXVII. 1905. p. 1395—1412.)
- Camus, L.**, Action du sulfate d'hordenine sur les ferments solubles et sur les microbes. (*Compt. rend. soc. biol.* T. LX. 1906. N. 6. p. 264—266.)
- Chodat, E.**, Les ferments oxydants. (*Schweizer. Wehnschr. f. Chem. u. Pharm.* Jg. XLIII. 1905.)
- Chodat, E. et Rouge, E.**, La sycochymase on le labferment du *Ficus carica*. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. N. 1/3. p. 1—9.)

- Die Hefenzuchtanstalt des Instituts für Gärungsgewerbe im Betriebsjahre 1905. (Ztschr. f. Spiritusindustrie. Jg. XXIX. 1906. N. 2. p. 9.)
- Dreyer, G. and Jex-Blake, A. J.**, On the agglutination of bacteria. Vid-Selsk. Skrifter 1905. 46 p. 4°.
- Dupond, M. E.**, Recherches sur la motilité et les organes moteurs des bactéries. Nancy 1905. 191 p. 8°. M. Taf. u. Fig.
- Effront, J.**, Gärung mit Kollophoniumzusatz. (La bière 1905. übers. in Böhm. Bierbrauer 1905. p. 386.)
- Fehrs**, Die Beeinflussung der Lebensdauer von Krankheitskeimen im Wasser durch Protozoen. (Hyg. Rundsch. Jg. XVI. 1906. N. 3. p. 113—121.)
- Fermi, Claudio**, Metodi vecchi e nuovi nella ricerca e nello studio degli enzimi proteolitici. (Giorn. d. R. soc. Ital. d'igiene. Anno XXVII. 1905. N. 11. p. 502—513.)
- , Metodi vecchi e nuovi nella ricerca e nello studio degli enzimi proteolitici (Contin.) (Giorn. d. R. Soc. Ital. d'Igiene. Anno XXVII. 1905. N. 12. p. 546—564.)
- , Metodi vecchi e nuovi nella ricerca e nella studio degli enzimi proteolitici. [Fine.] (Giorn. d. R. soc. Ital. d'igiene. Anno XXVIII. 1906. N. 1. p. 1—19. [Anno XXVII. N. 12. p. 546].)
- Ferrin, W. S.**, Researches upon the life-history of *Trypanosoma balbianii* (Certes). (Arch. f. Protistenkunde. Bd. VII. 1906. H. 1. p. 131—156. 2 Taf. u. 26 Fig.)
- Fuhrmann, Franz**, Untersuchungen über fluorezierende Wasservibrionen. (Mitt. d. naturw. Ver. f. Steiermark. Jg. 1904. Graz 1905. p. 82—101. 1 Taf.)
- H.**, Verfahren zur Akklimatisation von Brennereihefe an verhältnismäßig große Dosen von antiseptischen Salzen oder Säuren (Kupfersalze oder ein Gemenge von Ameisensäure und Kieselfluorwasserstoffsäure) und die Verwendung dieser Hefe im praktischen Betriebe. (Ztschr. f. Spiritusind. Jg. XXVIII. 1905. N. 48. p. 451.)
- Harrison, F. C. and Barlow, B.**, A new chromogenic slune-producing organism. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 17/18. p. 518—538.)
- Henneberg, W.**, Bakteriologische Untersuchungen in der Schnellseigfabrik, sowie Anreicherungs- und Säuerungsversuche mit Schnellseigbakterien. (D. dtische Dssigindustrie. Jg. IX. 1905. N. 49. p. 393—395; N. 50. p. 403—405; N. 51. p. 440—412.)
- , Giftwirkung der Ameisensäure auf verschiedene Pilze. (Ztschr. f. Spiritusind. Jg. XXIX. 1906. N. 5. p. 34—35.)
- Ingle, H.**, Further notes on the nitrogen fixing Bacteria. (Transvaal Agric. Journ. Vol. III. 1905. p. 725—729.)
- Inoculation of leguminous plants. (Journ. of the board of agric. Vol. XII. 1906. N. 11. p. 641—659. 3 Fig.)
- Jastram, Martin**, Ueber die Einwirkung der Röntgenstrahlen auf das Wachstum der Bakterien. Diss. med. Breslau 1905. 8°.
- Kaserer, Hermann**, Ueber die Oxydation des Wasserstoffes und des Methans durch Mikroorganismen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 17/18. p. 573—576.)
- Keysselitz, G.**, Generations- und Wirtswechsel von *Trypanoplasma borreli* Laveran et Mesnil. (Arch. f. Protistenkunde. Bd. VII. 1906. Heft 1. p. 1—74. 162 Fig.)
- Kohn, Eduard**, Zur Biologie der Wasserbakterien. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1906. N. 25. p. 717—726.)
- MacConkey, A.**, On the liquefaction of gelatin by the *Bacillus cloacae*. (Journ. of hyg. Vol. VI. 1906. N. 1. p. 23—32.)
- Malenković, Basilius**, Einige Daten über die Vergärbarkeit des Xylans. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. Jg. III. 1905. Heft 12. p. 515—516.)
- Manteufel**, Untersuchungen über die „Autotoxine“ (Conradi) und ihre Bedeutung als Ursache der Wachstumshemmung in Bakterienkulturen. (Berlin. klin. Wehnschr. Jg. XLIII. 1906. N. 11. p. 313—318.)
- Marino, F.**, Action des microbes vivants sur la solution de bleu azur dans l'alcool méthylique. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XIX. 1905. N. 12. p. 816—820.)
- Mercier, L.**, Phénomènes de sexualité chez *Myxobolus Pfeifferi*. (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 8. p. 427—428.)
- Mesnil, F. et Caullery, M.**, Comparaison des cycles évolutifs des Orthonectides et des Dicyémides. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLI. 1905. N. 20. p. 774—776.)
- Morini, F.**, Osservazioni sulla vita e sul parassitismo di alcune specie di *Piptocephalis*. 4 p. 1 Taf. 4°. (Mem. Accad. Bologna. Ser. 6. T. II. 1905. Fasc. 3/4.) 2 M.
- Mutchler, Fred.**, On the structure and biology of the yeast plant (*Saccharomyces cerevisiae*). (Journ. of med. Research. Vol. XIV. 1905. N. 1. p. 13—50. 1 Taf.)
- Neuhaus, F.**, Contribution à l'étude des ferments oxydants. Thèse de Genève. 1905. 8°.
- Omellianski, W.**, Ueber Methanbildung in der Natur bei biologischen Prozessen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Ref. Bd. XV. 1906. N. 22/23. p. 673—687.)
- Pano, Nicola**, Zur Biologie eines pathogenen *Bacterium viscosum*. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1906. Heft 3. p. 279—285. 1 Taf.)

- Paglione, V.**, Intorno al deperimento dei medici cagionato da *Urophlyctis alfarvae* P. Magn. (Rendic. Accad. Lincei. T. XIV. 1905. p. 727—730.)
- Perotti, Renato**, Influenza di alcune azioni oligodinamiche sullo sviluppo e sull' attività del *Bacillus radicolica* (Beijerinck). (Ann. di botanica. Vol. III. 1905. Fasc. 3. p. 513—526. 2 Taf.)
- Perrin, W. S.**, Observations on the Structure and Life-history of *Pleistophora periplanetae*. Lutz and Splendore. (Quart. Journ. of microsc. Sc. N. Ser. N. 196 (Vol. XLIX. P. 4) 1906. p. 615—633. 2 Taf.)
- Reichel, H. und Spiro, K.**, Beeinflussung und Natur des Labungsvorgangs. (Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. Bd. VII. 1905. Heft 10/11. p. 485—507.)
- Retger, Leo F.**, The antagonism of bacteria and their products to other bacteria. (Journ. of infect. dis. Vol. II. 1905. N. 4. p. 562—568.)
- de Bossi, Gino**, Ueber die Phänomene der Agglutination der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1906. Heft 4. p. 562—565.)
- Rothenbach, F. und Hoffmann, W.**, Das Vorkommen von *Bacterium xylinum* in Schnell-essigbildnern. (Die dtische Essigindustrie. Jg. X. 1906. N. 2. p. 17—18.)
- Schwarz, F. A.**, Ueber ein hitzebeständiges Bakteriengift. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1906. Heft 3. p. 273—279.)
- Sergent, Edmond et Etienne**, Evolution des Hématozoaires de l'*Athene noctua*, d'après F. Schaudinn. Recherches expérimentales. (Compt. rend. des séances du 6. Congrès internat. de Zool. Berne 1904; ersch. Bâle 1905. p. 384—388.)
- Smith, Erwin F.**, Bacteria in relation to plant diseases. Vol. I. Washington 1905. 285 p. 4^o. 31 Taf. u. 146 Fig. = Publicat. of the Carnegie Institut. N. 27.)
- Smith, E. F.** Bacteria in relation to Plant Disease. Vol. I. Methods of work and general literature of Bacteriology exclusive of Plant Diseases. Washington (Carnegie Institut. Sept. 1905. XII and 285 p. 146 Fig. u. 31 Taf. 4^o.)
- Smith, E. G.**, Possible relationship between Bacteria and the gum of *Hakea saligna*. Probable bacterial origin of the gum of Linseed Mucilago. (Proc. of the Linnean Soc. of New South Wales. Vol. XXX. 1905. P. 1.)
- Smith, Theobald**, Ueber einige Kulturmerkmale des Rauschbrandbacillus. (Ztschr. f. Infektionskr. d. Haustiere. Bd. I. 1905. Heft 1. p. 26—31.)
- Söhngen, N. L.**, Ueber Bakterien, welche Methan als Kohlenstoffnahrung und Energiequelle gebrauchen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 17/18. p. 513—517. 3 Fig.)
- Stoklassa, Julius und Vitek, Eugen**, Ueber den Einfluß der Bakterien auf die Metamorphose der Salpetersäure im Boden. (Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterr. Jg. IX. 1906. Heft 2. p. 49—105.)
- Sullivan, M. X.**, Synthetic culture media and the biochemistry of bacterial pigments. (Journ. of med. research. T. XIV. 1905. N. 1. p. 109—160.)
- Tennent, David Hilt**, A study of the life-history of *Bucephalus haimeanus*; a parasite of the oyster. (Quart. Journ. of microsc. Sc. N. Ser. N. 196 (Vol. XLIX. P. 4) 1906 p. 635—690. 4 Taf.)
- Thomas, Fr.**, Die Wachstumsgeschwindigkeit eines Pilzkreises von *Hydnum suaveolens* Scop. (Ber. Dtschn. bot. Ges. Bd. XXIII. 1905. Heft 9. p. 476—478.)
- Trillat**, Sur la présence de l'aldéhyde formique dans les produits gazeux de la combustion et sur les applications qui en décontent. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XIX. 1905. N. 11. p. 718—733.)
- Venema, T. A.**, Ueber eine Anreicherung von *Bacterium coli* im Wasser. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1906. Heft 4. p. 600—606.)
- Warmbold, Hermann**, Untersuchungen über die Biologie stickstoffbindender Bakterien. (Landw. Jahrb. Bd. XXXV. 1906. Heft 1/2. p. 1—123.)
- Wehmer, C.**, Zur Oxalsäurebildung durch *Aspergillus niger*. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Ref. Bd. XV. 1906. N. 22/23. p. 688—690.)
- Will, H.**, Welche Krankheitserscheinungen ruft *Sarcina* hervor und welche Kampfmittel besitzen wir gegen jene? (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVIII. 1905. N. 50. p. 817—820; N. 51. p. 833—836.)
- Will, H. und Wanderscheck**, Beiträge zur Frage der Schwefelwasserstoffbildung durch Hefe. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXIX. 1906. N. 6. p. 73—78; N. 7. p. 89—96.)
- Willimsky, Walther**, Ueber das Verhalten der aeroben Keime gegenüber der absoluten Sauerstoffentziehung. (Arch. f. Hyg. Bd. LIV. 1905. Heft 4. p. 375—385.)
- Wolff, G. P.**, Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Flechtenapothecien 1905. 29 p. 8^o. 22 Fig. (Flora.) 2 M.
- Wrzosek, A.**, Ueber das Wachstum obligatorischer Anaeroben auf Kulturmitteln in aeröber Weise. (Wiener klin. Wehnschr. Jg. XVIII. 1905. N. 48. p. 1268—1270.)
- Zikes, Heinrich**, Ueber eine neue Anomalushefe. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. XXXIV. 1906. N. 2. p. 13—16.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft, Wasser, Boden.

- Bakterien in destilliertem Wasser. (Dtsche Brauindustrie Berlin. Jg. XXX. 1905. N. 56. p. 35.)
- Ballner, Franz**, Ueber die Methoden zur Sterilisation des Trinkwassers im Felde. (Wiener med. Wochenschr. Jg. LVI. 1906. N. 4. p. 165—178.)
- Boetticher, H.**, Die Tätigkeit der Bodenbakterien im Haushalt der Natur. [Forts.] (Mitt. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. Jg. XVII. 1905. N. 11. p. 185—192. 18 Fig.)
- Bezault et Bechmann**, Discussion sur l'épuration biologique des eaux d'égout. (Rev. d'hyg. et de police sanit. T. XXVIII. 1906. N. 2. p. 104—112. 2 Fig.)
- Calmette**, Sur l'épuration biologique des eaux d'égout. (Rev. d'hygiène et de police sanit. T. XXVII. 1905. N. 11. p. 984—988.)
- Christian**, Zum Nachweis fäkaler Verunreinigung von Trinkwasser. (Arch. f. Hyg. Bd. LIV. 1905. Heft 4. p. 386—395.)
- Dünkelberg, Friedrich Wilhelm**, Ueber Reinigung des Wassers für kommunale, häusliche und gewerbliche Zwecke, besonders auch für Brauereien. (Allg. Ztschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrik. Jg. XXXIII. 1905. N. 52. p. 591—595. 2 Fig.)
- Kohn, Eduard**, Zur Biologie der Wasserbakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Ref. Bd. XV. 1906. N. 22/23. p. 690—708.)
- Langenbeck, E.**, Neuere Ergebnisse der Bodenimpfung mit Knöllchenbakterien. (Landw. Annalen d. mecklenburg. patriot. Ver. Jg. XLV. 1906. N. 2. p. 9—12.)
- Lauff**, Trinkwasser und Wasserleitung. (Blätt. f. Volksgesundheitspf. Jg. VI. 1906. N. 2. p. 32—37.)
- Le Méhauté**, Eau potable a bord du Duguay-Trouin. (Arch. de méd. navale. T. LXXXIV. 1905. N. 12. p. 432—446. 5 Fig.)
- Mencl, Emanuel**, Cytologisches über die Bakterien der Prager Wasserleitung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 17/18. p. 544—564. 4 Taf.)
- Hesfield, V. B.**, Further experiments on the bacteriocidal powers of chlorine and iodine, with a note on their application to the purification of water on field service. (Indian med. Gaz. Vol. XL. 1905. N. 12. p. 449—451.)
- Nieter, A.**, Ueber den Nachweis von Typhusbacillen im Trinkwasser durch Fällung mit Eisenoxydchlorid. (Hyg. Rundsch. Jg. XVI. 1906. N. 2. p. 57—59.)
- Pilatte, E.**, La stérilisation des eaux par l'ozone. Essai d'application aux eaux d'alimentation de la Ville de Nice. (Rev. scientifique. Sér. 5. T. V. 1906. N. 2. p. 37—43.)
- De la Puerta, G.**, Analysis quimico-bacteriologica de las Aguas potables. Madrid 1905. 39 p. 4°. 2,50 M.
- Rahnenführer**, Beziehungen des Bodens zu Krankheiten der Haussäugetiere und Krankheitsverhütung durch Beseitigung von Krankheitsursachen. (Hannoversche Land- u. Forstwirtschaft.-Ztg. Jg. LVIII. 1905. N. 52. p. 1229—1232.)
- Rolants, E.**, Epuration biologique des eaux résiduaires de féculerie. (Rev. d'hyg. et de police sanit. T. XXVIII. 1906. N. 2. p. 75—84.)
- Schorler, B.**, Die Rostbildung in den Wasserleitungsröhren. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. N. 17/18. p. 564—568.)
- Schreiber, Karl**, Zur Beurteilung des Ozonverfahrens für die Sterilisation des Trinkwassers. (Mitt. a. d. k. Prüfungsanst. f. Wasserversorg. u. Abwässerbeseitig. Berlin 1906. Heft 6. p. 60—74.)
- The bacteriological examination of the London water supply. (British med. Journ. 1906. N. 2357. p. 512—513.)
- Vasseur, Louis**, La lutte contra la poussière. (Ann. d'hyg. publ. et de méd. lég. Sér. 4. T. V. 1906. p. 97—116. 4 Fig.)
- Zonchello, Cesare**, Sulla resistenza di alcuni germi patogeni nelle correnti d'aria. (Giorn. d. R. soc. Ital. d'igiene. Anno XXVII. 1905. N. 11. p. 489—502; N. 12. p. 537—545.)

Nahrungsmittel.

- Arnost, Alois**, Ei-Konserven. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. X. 1905. Heft 11. p. 686—688.)
- Die Pasteurisierung der Fruchtsäfte. Selterwasser- u. Brauselimonadenfabrikation. (Gratisbeilage zur Deutschen Brau-Industrie 1906. Jg. I. 1906. N. 11. p. 41—43.)
- Eichholz**, Sterilisieren von Nahrungsmitteln mittelst Wasserstoffsperoxyd. (Konserven-Ztg. Jg. 1906. N. 4. p. 39—40.)
- Farnsteiner, K. und Battenberg, P.**, Zur Frage des Ueberganges von Borsäure aus dem Futter in die Organe und das Fleisch der Schlachttiere. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. XI. 1906. Heft 1. p. 8—10.)
- Fuhrmann, Franz**, Ueber die Erreger des Fadenziehens beim Brote. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 17/18. p. 538—544.)

- König, J., Spieckermann, A.**, Beiträge zur Zersetzung der Futter- und Nahrungsmittel durch Kleinwesen. 6. Ueber die Zersetzung von pflanzlichen Futtermitteln bei Luftabschluß. Ausgeführt von H. Kutteneuler. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. XI. 1906. Heft 4. p. 177—205.)
- Maurizio, A.**, Zur Lebensweise der Milben der Familie der Tyroglyphinae in Futter- und Nahrungsmitteln. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 19/20. p. 606—623; N. 22/23. p. 723—736.)
- Müller, Alb.**, Vergiftungen durch Konserven. (Konserven-Ztg. Jg. 1906. N. 5. p. 53—54.)
- Peglion, V.**, Alterazioni delle castagne cagionate da *Penicillium glaucum*. (Rendic. Accad. Lincei. T. XIV. 1905. p. 45—48.)
- Studien über verdorbene Gemüsekonserven. (Konserven-Ztg. Jg. 1906. N. 7. p. 77—78.)
- Tandler, G.**, Beiträge zum Borsäure-Nachweis. (Ztschr. f. Untersuchung d. Nahr.- u. Genußmittel. Bd. XI. 1906. Heft 3. p. 137—144.)
- Thomann**, Zum Artikel „Schleimigwerden der Limonade“. (Schweizer. Wchnschr. f. Chem. u. Pharm. Jg. XLIII. 1905. N. 47. p. 645—646.)
- Wintgen, M.**, Ueber Bombage von Konserven. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahr.- u. Genußmittel. Bd. X. 1905. Heft 12. p. 757—761.)
- Wolfrum, L. und Pinnow, Joh.**, Ueber die Empfindlichkeit der Borsäurereaktion Kurkumapapier. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahr.- u. Genußmittel. Bd. XI. 1906. Heft 3. p. 144—156.)

Milch, Molkerei.

- Bandini, P.**, Azione della formalina e dell' acqua ossigenata nel latte. (Riv. d'igiene e sanità pubbl. Anno XVI. 1905. N. 23. p. 869—898.)
- Baumann, E.**, Bemerkungen zu der Arbeit von Mstislaw Lukin, Moskau: Experimentelle Untersuchungen über Sterilisierung der Milch mit Wasserstoffsperoxyd, unter spezieller Berücksichtigung des von Budde angegebenen Verfahrens. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 19/20. p. 639—640.)
- Beobachtungen über das Abbrühen des Käseisauers. (Milch-Ztg. Jg. XXXV. 1906. N. 2. p. 16. [Jahresber. 1904 d. Bernischen Molkereischule Rütli-Zollikofen].)
- Burri, R. und Duggell, M.**, Bakteriologischer Befund bei einigen Milchproben von abnormaler Beschaffenheit. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Ref. Bd. XV. 1906. N. 22/23. p. 709—722.)
- Chester, Frederick D. and Brown, Thomas R.**, On the action of formaldehyd in the preservation of milk. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 19/20. p. 629—639. 3 Fig.)
- Cleanliness in the dairy. (Board of agricult. and fish. Leaflet 1905. N. 151. 7 p. 6 Fig.)
- Die Trinkmilch. (Milch-Ztg. Jg. XXXV. 1906. N. 7. p. 73—75.)
- Difflöth, Paul**, Congrès international de laiterie. (Ann. d'hyg. publ. et de méd. légale. Sér. 4. T. V. 1906. p. 48—72.)
- D'heil, Rudolf**, Beitrag zur Frage des Bakteriengehalts der Milch und des Euters. Berlin (Schoetz) 1906. 8°. 48 p. = Arb. a. d. hyg. Inst. d. k. tierärztl. Hochsch. Berlin. 1,20 M.
- D'heil**, Beitrag zur Frage des Bakteriengehalts der Milch und des Euters. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XVI. 1905. Heft 3. p. 84—85.)
- D'heil, Rudolf**, Beitrag zur Frage des Bakteriengehaltes der Milch. Diss. vet.-med. Gießen. 1906. 8°.
- Douglas, Carstairs**, Observations on the use of formic aldehyde as a milk preservative. (Scottish med. and Surg. Journ. November 1905.)
- Duggell, Max**, Bakteriologische Untersuchungen über das armenische Mazun. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 19/20. p. 577—600.)
- du Roi**, Ueber Milchreinigung und Versuche mit zwei Milchsieben neuerer Konstruktion. (Der Landbote. Jg. XXVII. 1906. N. 10. p. 100—101.)
- Eckles, C. H. und Bahn, Otto**, Die Reifung des Harzkäses II. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1906. N. 25. p. 726—730.)
- Gerber, N. und Hirschi, A.**, Einwirkung ultravioletter Strahlen auf Milch. (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. XVI. 1906. N. 5. p. 52.)
- Gorini, Const.**, Ueber meine Reinkulturen-Anwendungsmethode zur Herstellung des italienischen Grana(-Parmesan)-Käses. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1906. N. 731—733.)
- Gorini, C.**, Zur Priorität der Methode der Käseuntersuchung durch mikroskopische Schnittpräparate. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. N. 1/3. p. 66.)
- Grigoroff, Stamen**, Etude sur un lait fermenté comestible. Le kissélo-mléko de Bulgarie. (Rev. méd. de la Suisse Romande. Année XXV. 1905. N. 10. p. 714—721.)
- Henseval, M. et Mullie, G.**, La réfractométrie du lait. (Rev. gén. du lait. Septembre 1905. p. 529—538.)

- Hewlett, E. Tanner**, An experimental investigation of the Budde process for the preservation of milk. (Lancet. 1906. Vol. I. N. 4. p. 209—211.)
- Kaufmann, J.**, Der Käse vom hygienischen Standpunkte aus betrachtet. (Milch-Ztg. Jg. XXXIV. 1905. N. 50. p. 611.)
- Manteufel**, Statistische Erhebungen über die Bedeutung der sterilisierten Milch für die Bekämpfung der Säuglingssterblichkeit. (Münch. med. Wchnschr. Jg. LIII. 1906. N. 7. p. 303—307.)
- Metschnikoff, E.**, Quelques remarques sur le lait aigri. Paris (Malome) 1905. 8°. —,90 M.
- Morres, Wilhelm**, Untersuchungen über eine einfache und zuverlässige Methode zur Haltbarkeitsprüfung der Milch. (Milch-Ztg. Jg. XXXIV. 1905. N. 48. p. 585—586.)
- Moussu, G.**, Die Milch tuberkulöser Kühe. Beobachtungen über die Entstehung der tuberkulösen Euterentzündung. (Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk. Bd. XXXII. 1906. Heft 3. p. 279—294. 2 Taf.)
- Peter, A. und Schneebeli, M.**, Ein bemerkenswerter Fall von nachträglicher Käseblähung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 19/20. p. 600—605. 2 Taf.)
- Peter, Albin**, Untersuchungen über die Brauchbarkeit verschiedener Labsorten für die Emmentalerkäseerei. (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. XV. 1905. N. 49. p. 579—580. [Jahresber. d. Bernischen Molkereischule i. Rütli-Zollkofen f. 1904/05.]
- Pethybridge, George H.**, The causes of „blowing“ in tins of condensed milk. (The Economic Proceedings of the R. Dublin. Soc. Vol. I. 1906. P. 7. p. 306—320.)
- Praetorius**, Milch und Milchuntersuchung. Leipzig (Leineweber) 1905. 18 p. 8°. —,50 M.
- Reiss, F.**, Die Notwendigkeit der Deklaration pasteurisierter Milch, eine Lücke in der Berliner Milch-Polizeiverordnung vom 15. März 1902. (Molkerei-Ztg. Jg. XVI. 1906. N. 7. p. 73—74.)
- Reitz, Adolf**, Milchhygiene und Tuberkulosebekämpfung in Dänemark und Schweden. Zugleich ein Beitrag zur Technik der Pasteurisierapparate. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XVI. 1906. Heft 5. p. 143—151. 4 Fig.)
- Robertson, W. G. Aitchinson**, Considerations relating to the improvement of the milk supply, with special reference to the city of Edinburgh. (Trans. of the med.-chir. soc. Edinburgh. N. S. Vol. XXIV. 1905. p. 61—88.)
- Rodella, Antonio**, Ueber die Bedeutung der streng anaeroben Fäulnisbacillen für die Käsereifung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. N. 1/3. p. 52—66. 2 Taf.)
- Bogosiński, Feliks**, Zjawisko dojrzewania serów w świetle dotychczasowych badań. (Käsereifung n. d. modern. Untersuch.) (Roczn. roln Kraków. 2. 1905. p. 75—110.)
- Bolet, Antonin**, Abhilfe der Fehler bei den Weichkäsen. (Milch-Ztg. Leipzig. Jg. XXXV. 1906. N. 5. p. 51—52. [L'ind. laitière 30. 1905.]
- Seligmann, E.**, Ueber die Reduktasen der Kuhmilch. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. LII. 1906. Heft 2. p. 161—178.)
- Steinogger, E.**, Die Aldehydzahl der Milch. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. X. 1905. Heft 11. p. 659—671.)
- v. Szontagh, Felix**, Zur Biochemie der Milch. (Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. LXII. 1905. Heft 5. p. 715—722.)
- Wallich, V. et Levaditi, C.**, Recherches sur les éléments du colostrum et du lait. (Ann. de gynécol. et d'obstetr. Année XXXII. Sér. 2. 1905. T. II. p. 713—718. 6 Fig.)
- Wolf, Karl**, Säuregrad und Keimgehalt bei gewöhnlicher und bei pasteurisierter Milch. Diss. med. Berlin, 1906. 8°.
- Wurts**, Bericht über den internationalen Milchkongreß in Paris. (Straßburg. med. Ztg. Jg. II. 1905. Heft 12. p. 292—295.)
- Żeleński, Tadeusz**, O pasteryzacji mleka dla niemowląt. (Pasteurizat. d. Milch d. Säugl.) (Przegl. lek., Kraków 44. 1905. p. 303—305.)

Fleisch.

- Borchmann**, Notwendigkeit der Untersuchung von mit Pferde-, Hunde-, Hirsch-, Renttierfleisch u. s. w. verfälschten Fleisch- und Wurstwaren mittelst der sogenannten biologischen Methode durch Tierärzte. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XVI. 1905. Heft 3. p. 80—84.)
- Hewlett, E. Tanner**, The vitality of the typhoid bacillus in shellfish. (Journ. of preventive med. Vol. XVIII. 1905. N. 12. p. 779—781.)
- Hoffmann, E.**, Ein neuer Fleischsterilisator. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XVI. 1906. Heft 6. p. 172—174.)
- Nash, J. T. C.**, Shellfish, seaweed and sewage. (British med. Journ. 1906. N. 2356. p. 439.)
- Pfuhl, E. und Wintgen**, Ueber eine nicht bakterielle Ursache für die Auftreibung von Fleischkonservenbüchsen. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. LII. 1905. Heft 1. p. 145—148.)

Picard, Johannes Hendrikus, Ueber den Wert der biologischen Reaktion als Erkennungsmittel von Fleischarten. Utrecht 1904. 76 p. 8°. Diss. vet.-med. Bern, 1904/05.)

Bier, Bierbrauerei.

- A.**, Nässe und Schimmel im Gär- und Lagerkeller. (Dtsche Brau-Industrie. 1906. N. 8. p. 88—89.)
- Franzl, B.**, Das Paraffinieren der Gärbottiche. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrikat. Jg. XXXI. N. 51. p. 582—583.)
- Heinselmann, B.**, Die Erfindungen auf dem Gebiete des Pasteurisierens von Bier in geschichtlicher Darstellung. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXIII. 1906. N. 10. p. 105—109.)
- Hohmann**, Stürmische Angärung der Maische. (Ztschr. f. Spiritusind. Jg. XXIX. 1906. N. 2. p. 11.)
- Kastner, Heinrich**, Die Bedeutung der Kälte für die Obergärung. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXIII. 1906. N. 3. p. 23—26.)
- Keil, H.**, Die im November 1905 untersuchten Biere. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 51. p. 770—772.)
- Keil, H.**, Die im Dezember 1905 untersuchten Biere. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXIII. 1906. N. 3. p. 27—28.)
- Prior, E.**, Biertypen und Bereitung von Qualitätsbieren. (Mitt. d. Oesterr. Versuchsanstalt u. Akad. f. Brauindustrie Wien. Nov. 1905. 9 p. [Allg. Ztschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrik.].)
- Mitteilungen der Oesterreichischen Versuchsstation und Akademie für Brauindustrie in Wien. Jänner 1906. 10 p. 4°. Inhalt: **Zikes**, Ueber eine neue Anomalushefe. — **Jalowetz**, Die Beziehungen des Stickstoffgehaltes des Gerstenkornes zur Beschaffenheit des Mehlkörpers, nebst einer Methode zur raschen Orientierung über den Stickstoffgehalt der Gerstenkörner. — **Schwackhöfer**, Ueber die Behandlung der Gärbottiche.)
- Schnegg, H.**, Formaldehyd als Desinfektionsmittel für den Brauereibetrieb. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVIII. 1905. N. 49. p. 806—810; N. 50. p. 820—824.)
- Schönfeld**, Ueber das Yorkshire Gärverfahren. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXIII. 1906. N. 9. [Glendinning, Journ. of the Inst. of Brewing. 1905. N. 5].)
- Thausing**, Das Paraffinieren. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. XXXIII. 1905. N. 50. p. 567—568.)
- Windisch, W.**, Zur Frage der Zementgärgefäße. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXIII. 1906. N. 3. p. 21—22.)

Wein, Weinbereitung.

- Antiacidum und Anoxydine. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXII. 1905. N. 48. p. 481—482.)
- Artigala, J.**, Les vins de Banyuls. (Moniteur vinicole. Année L. 1905. N. 93. p. 370. [Journ. des viticulteurs].)
- Carles, P.**, Residus d'usine de tartres et lies. (Moniteur vinicole. T. L. 1905. N. 95. p. 378.)
- Carles, P.**, Le froid et les vins. (Moniteur vinicole. Année LI. 1906. N. 8. p. 30.)
- Cordier, J. A.**, Observations biologiques sur la mousse naturelle des vins blancs. (Rev. de viticult. Année XIII. 1906. N. 633. p. 125—127.)
- Desmoulins, A. M.**, La conservation du vin dans les cuves en maçonnerie. (Moniteur vinicole. Année L. 1905. N. 94. p. 373—374.)
- Fallot, B.**, Le traitement des vins verts. (Rev. de viticult. Année XII. T. XXIV. 1905. N. 625. p. 638—642.)
- Kulisch**, Ueber die Erziehung der elsässischen Weine zur Flaschenreife, mit besonderer Berücksichtigung des Pasteurisierens der Weine. (Landw. Ztschr. Jg. XXXIV. 1906. N. 8. p. 145—151.)
- Meissner**, Ueber das Trübwerden der 1904er Weine. (Der Weinbau. Jg. IV. 1905. N. 7. p. 107—110.)
- , Zur Mostbereitung im Jahre 1905. (Der Weinbau. Jg. IV. 1905. N. 9. p. 142—143.)
- , Ueber die aus Mostsubstanzen hergestellten Moste. (Der Weinbau. Jg. IV. 1905. N. 11. p. 175—177.)
- , Ueber einen silberglänzenden Hefetrub. (Der Weinbau. Jg. IV. 1905. N. 12. p. 189—190.)
- , Ueber die chemische Zusammensetzung des Weines, der aus verschiedenen Höhen des Weinfasses entnommen worden ist. (Der Weinbau. Jg. IV. 1905. N. 12. p. 190—191.)
- Moreau, L.**, Pasteurisation des vins en Anjou. (Rev. de viticult. Année XIII. T. XXV. 1906. N. 638. p. 261—264.)
- Osterwalder, A.**, Weitere Beiträge zur Kenntnis unserer Obstweihen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1906. N. 1/3. p. 35—52. 1 Taf.)

- Rothenbach**, Verwendung von Wein beim Orleansverfahren. (D. dtische Essigindustrie. Jg. IX. 1905. N. 50. p. 405—406.)
- Thomas, G.**, Les fermentations secondaires du vin en cave. (Moniteur vinicole. Année L. 1905. N. 93. p. 370.)
- , La pasteurisation des vins en bouteilles. (Moniteur vinicole. Année 1905. N. 94. p. 374.)
- , L'action des lies sur la conservation du vin. (Moniteur vinicole. T. L. 1905. N. 95. p. 377—378.)
- , Les vins verts. (Moniteur vinicole. T. L. 1905. N. 96. p. 381—382.)
- , Clarification des vins en fermentation. (Moniteur vinicole. Année LI. 1906. N. 9. p. 34.)
- , Preparation et clarification du Vermouth. (Moniteur vinicole. Année LI. 1906. N. 11. p. 42.)
- , L'acescence des vins. (Moniteur vinicole. Année LI. 1906. N. 12. p. 46.)
- Windisch, Karl**, Die chemischen Vorgänge beim Werden des Weines. Stuttgart (Ulmer) 1906. III, 122 p. 8°. 6 Tab. 4 M.

Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion etc.

- Alvares, C. D.**, O Lysoformio e seu poder bactericido. (Socied. das Sc. med. Lisboa. Janvier 1905.)
- Chick, Harriette**, A study of the process of nitrification with reference to the purification of sewage. (Proc. R. Soc. Ser. B. Vol. LXXVII. N. B 517. Biol. Sc. 1906. p. 241—266.)
- De' Bossi, Gino**, Sul potere microbica dei sali d'argento con particolare riguardo al fluoruro (tachiolo) ed al nitrato e loro applicazione alla sterilizzazione delle acque potabili. (Riv. d'igiene e sanità pubbl. Anno XVII. 1906. N. 38—56.)
- Dibdin, W. J. and Savage, William G.**, The relative value of chemical and bacteriological methods for the examination of sewage effluents. (Journ. of preventive med. Vol. XIV. 1906. N. 1. p. 37—44.)
- Goldschmidt, D.**, Die biologische Reinigung der Abwässer und ihre eventuelle Anwendung auf die Entwässerung von Straßburg. (Straßburg. med. Ztg. Jg. II. 1905. Heft 12. p. 273—279.)
- Gloger, Roman**, Kalium tellurosum in der Medizin und Hygiene. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1906. Heft 4. p. 584—590.)
- Günther, Carl und Reichl**, Gutachten d. k. Prüfungsanstalt f. Wasserversorgung und Abwässerbeseitigung über die Abwässerbeseitigung von Neustrelitz, erst. 5. 4. 1904. (Mitt. a. d. k. Prüfungsanst. f. Wasserversorg. u. Abwässerbeseitig. Berlin 1906. Heft 6. p. 1—33.)
- Heusner**, Ueber Jodbenzindesinfektion. (Centralbl. f. Chir. Jg. XXXIII. 1906. N. 8. p. 209—214.)
- Jägerheimer, J.**, Ueber die bakterizide Kraft des 60-proz. Aethylalkohols. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1906. Heft 3. p. 414—419.)
- Kausch**, Neuerungen auf dem Gebiete der Sterilisation und Desinfektion. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXVII. 1906. N. 18/20. p. 567—583; N. 21/22. p. 641—647. 23 Fig.)
- Kenwood, Henry and Hewlett, R. T.**, Some observations upon the practical standardisation of disinfectants. (Journ. of the R. sanitary Instit. Vol. XXVII. 1906. N. 1. p. 1—16.)
- Kirstein, Fritz**, Leitfaden für Desinfektoren in Frage und Antwort. 3. verb. Aufl. Berlin (Springer) 1906. 55 S. 1,40 M.
- Lange, H.**, Die Anwendung des Formaldehyds in Dickmaischbrennereien. (D. dtische Essigindustrie. Jg. X. 1906. N. 2. p. 18—20.)
- , Die Anwendung des Formaldehyds in Dickmaischbrennereien. (Ztschr. f. Spiritusind. Jg. XXIX. 1906. N. 1. p. 1—2.)
- Lauper**, Melioform, ein neues Desinficiens. (Korresp.-Bl. f. Schweizer Aerzte. Jg. XXXVI. 1906. N. 1. p. 15—17.)
- Lindemann**, Versuchsergebnisse mit Melioform als Desinfektionsmittel für Hände und Instrumente. (Dtsche med. Wchnschr. Jg. XXXII. 1906. N. 8. p. 302—304. 5 Fig.)
- Monn, Johann Anton**, Die Heißwasser-Alkoholdesinfektion. Frauenfeld 1904. 82 p. 8°. Diss. med. Basel, 1904/05.
- Müller**, Der Percy-Simundtsche Telephon-Desinfektor. (München. med. Wchnschr. Jg. LII. 1905. N. 51. p. 2495—2497.)
- Niemann, F.**, Ueber die keimtötende Wirkung eines neuen Desinficiens „Belloform“. (Allg. med. Central-Ztg. Jg. XLV. 1905. N. 9. p. 158—159.)
- Palmer, R. F.**, The bacterial treatment of sewage and its adaptability to small communities. (Med. News. Vol. LXXXVII. 1905. N. 17. p. 780—782.)
- Promnitz, Bruno**, Untersuchungen über Lysoform. Berlin 1905. 20 p. 4°. Diss. vet.-med. Bern, 1904/05. (Fortschr. d. Vet.-Hyg.)

- de Rossi, Gino**, Sul potere microbica dei sali d'argento. (Riv. d'igiene e sanità pubbl. Anno 17. 1906. N. 1. p. 6—19.)
- Salomon, Hermann**, Die städtische Abwässerbeseitigung in Deutschland. Wörterbuchartig angeordnete Nachrichten und Beschreibung städtischer Kanalisations- u. Kläranlagen in deutschen Wohnplätzen. Bd. I.: Das deutsche Maas-, Rhein- u. Donaugebiet umfassend, nebst einem Anhang: Abwässerbeseitigungsanlagen in größeren Anstalten. Jena (Fischer) 1906. XI, 576 S. 8°. 40 Taf. 9 Fig. 1 Karte. 20 M.
- Schneider, Hans**, Der Desinfektionswert von Lysoform bei mäßig erhöhter Temperatur. (Dtsche med. Wehnschr. Jg. XXXII. 1906. N. 6. p. 215—216.)
- Schreiber, K. und Imhoff**, Gutachten d. k. Prüfungsanst. f. Wasserversorg. u. Abwässerbeseitig. betreff d. Abwässerbeseitigung von Rastenburg, erst. 20. 4. 1903. (Mitt. a. d. k. Prüfungsanst. f. Wasserversorg. u. Abwässerbeseitig. Berlin 1906. Heft 6. p. 35—51.)
- Schnürer, Josef**, Weitere Versuche zur Desinfektion der Eisenbahnviehtransportwagen mit wässerigen Formaldehydlösungen. (Ztschr. f. Infektionskr. d. Haustiere. Bd. I. 1905. Heft 1. p. 32—44.)
- Schnürer, Josef**, Weitere Versuche zur Desinfektion der Eisenbahnviehtransportwagen mit wässerigen Formaldehydlösungen. [2. Mitt.] (Ztschr. f. Infektionskr. d. Haustiere. Bd. I. 1906. Heft 2/3. p. 144—152.)
- Spitta und Weidert**, Indikatoren für die Beurteilung biologisch gereinigter Abwässer. (Mitt. a. d. k. Prüfungsanst. f. Wasserversorg. u. Abwässerbeseitig. Berlin 1906. Heft 6. p. 160—182.)
- Verhoeff, F. H.**, Sodium aurate: a non-irritating local antiseptic of remarkable power. (Journ. American med. assoc. Vol. XLVI. 1906. N. 4. p. 270—273.)
- Winterberg, Josef**, Kurzer Bericht über den bakteriziden und praktischen Wert des Isoforms. (Med. Klinik. Jg. II. 1906. N. 8. p. 198—200.)
- Woods, A. F.**, Inoculation of soil with nitrogen-fixing bacteria. (Tropical Agriculturist. Colombo. N. Ser. Vol. XXV. 1905. N. 6. p. 778—782.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserrgende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

- A conifer disease. (Journ. of the board of agricult. Vol. XII. 1905. N. 3. p. 177—179. 1 Fig.)
- Anastasia, G. E.**, Tetranychus telarius sulle Tabacum. (Boll. tecnico d. coltivazione dei Tabacchi. Anno IV. 1905. N. 3/4. 1 Taf.)
- A mushroom disease (Hypomyces perniciosus). (Board of agricult. and fish. Leaflet. 1905. N. 139. 3 p. 3 Fig.)
- Appel**, Der Kartoffelschorf und die Haltbarkeit schorfiger Kartoffeln. (Braunschweig. landw. Ztg. Jg. LXXIII. 1905. N. 46. p. 193—194. [Ill. landw. Ztg.]
- Chausit, B.**, Le pyrale (ses moeurs et son traitement). (Rev. de viticult. Année XIII. T. XXV. 1906. N. 629. p. 5. 1 Taf.)
- Cockerell, T. D. A.**, A new Scale-Insect (Fam. Coccidae) on the rose. (Zool. Anz. Bd. XXIX. 1905. N. 16. p. 514—515.)
- Froggatt, W. W.**, Aphis attacking wheat. (Agricult. Gaz. of New South Wales. Vol. XVI. 1905. P. 12. p. 1180—1184. 1 Taf. u. 1 Fig.)
- Fuchs, Gilbert**, Etwas über Pisodes harenyniae Hbst. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. Jg. III. 1905. Heft 12. p. 507—508. 1 Taf.)
- Gallaud, J.**, Un nouvel ennemie des Caféiers en Nouvelle-Calédonie. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXLI. 1905. N. 898—900.)
- Green, E. Ernest**, Entomological notes (Lepidoptera pinguis). (Tropical Agriculturist. N. S. Vol. XXV. 1905. N. 4. p. 520—523.)
- Hunger, F. W. T.**, Untersuchungen und Betrachtungen über die Mosaikkrankheit der Tabakpflanze. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XV. 1905. Heft 5. p. 257—311.)
- Jouvet, F.**, Expérience contre le black rot dans le Jura. (Rev. de viticult. Année XII. T. XXIV. 1905. N. 627. p. 685—687.)
- Kirchner, O.**, Die Krankheiten u. s. w. unserer landwirtschaftlichen Kulturpflanzen. Aufl. 2. Stuttgart [Ulmer] 1905. Lief. 3. 2 M.
- Köck, Karl**, Beobachtungen über das Auftreten der Carpocapsa pomonana im Jahre 1905. (Obstgarten. Jg. XIII. 1905. N. 12. p. 181—182.)
- Kolbe, H.**, Zwei schädliche Käfer auf Orchideen. (Gartenflora. Jg. LV. 1906. Heft 1. p. 2—6.)
- Korff, G.**, Auswüchse an Kohlblättern. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. IV. 1906. Heft 1. p. 5—9. 1 Fig.)
- , Ueber das Auftreten schädlicher Getreidemilben in Bayern im Sommer 1905. [Schluß.] (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. III. 1905. Heft 11. p. 122—126.)
- Lawe, Fredk.**, Insect pests in West Australian orchards and vineyards. (Journ. of the depart. of agricult. Western Australia. Vol. XII. 1905. P. 4. p. 302—307.)

- Ma.**, Die Reblaus in Württemberg. (Der Weinbau. Jg. IV. 1905. N. 10. p. 160.)
- Mährlen**, Von der Peronospora. (Der Weinbau. Jg. IV. 1905. N. 7. p. 112.)
- Müller-Thurgau, H.**, Die Milbenkrankheit der Reben (Verzweigung, Court-noué, Kränkelkrankheit etc.) (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. N. 19/20. p. 623—629. 2 Fig.)
- Nüsslin, O.**, Der Fichtenborkenkäfer *Tomicus typographicus* L. im Jahre 1905. in Herrenwies und Pfullendorf. [Schluß.] (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. Jg. III. 1905. Heft 12. p. 481—493.)
- Prunet, A.**, Recherches nouvelles sur l'évolution du black rot. (Rev. de viticult. Année XII. T. XXIV. 1905. N. 626. p. 664—666.)
- Reh**, Kleinere Arbeiten über amerikanische Insekten. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XV. 1905. Heft 5. p. 311—314.)
- Ris, F.**, Ueber eine Pilzkrankung von Gartenhimbeeren. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. III. 1905. Heft 11. p. 121—122.)
- Seeliger**, Rübenschädlinge. (Braunschweig. landw. Ztg. Jg. LXXIII. 1905. N. 50. p. 213.)
- Stewart Mac Dougall, E.**, Gallnats injurious to osiers and willows. (Journ. of the board of agricult. p. 499—503. 5 Fig.)
- The bean beetle. (Journ. of the board of agricult. Vol. XII. 1905. N. 3. p. 162—163.)
- Theiler, Arnold**, The advance of our knowledge respecting the stock diseases of South Africa. (Natal agricult. Journ. and mining. Rec. Vol. VIII. 1905. N. 11. p. 1106—1117.)
- v. Tubeuf**, Hexenbesen an *Pinus strobus*. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. Jg. III. 1905. Heft 12. p. 512—513. 1 Fig.)
- v. Tubeuf, C.**, Intumescenzbildung der Baumrinde unter Flechten. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. Jg. IV. 1906. Heft 1. p. 60—64. 1 Taf. u. 2 Fig.)
- Vom Reblausgebiet. (Der Weinbau. Jg. IV. 1905. N. 10. p. 160—161. [Aus: Staatsanzeiger f. Württemberg].)
- Vosseler**, Die Wanderheuschrecken in Usambara im Jahre 1903/1904, zugleich ein Beitrag ihrer Biologie. (Ber. über Land- u. Forstwirtschaft. in Deutsch-Ostafrika. Bd. II. 1905. Heft 2. p. 291—374. 2 Taf.)
- White rust of cabbages. (Journ. of the board agricult. Vol. XII. 1905. N. 8. p. 480—481. 1 Fig.)
- White rot of vines. (Journ. of the board of agricult. Vol. XII. 1905. N. 8. p. 494—496. 1 Fig.)
- Wooly aphid. (Journ. of the depart. of agricult. Western Australia. Vol. XII. 1905. P. 4. p. 347.)

Inhalt.

- Zusammenfassende Uebersichten.**
- Reitz, Adolf**, Bakteriologische Butteruntersuchungen, p. 193.
- Originalreferate über Kongresse.**
- Résolution du 2e Congrès international de Laiterie**, p. 213.
- Referate.**
- Appel und Börner**, Ueber Zerstörung der Kartoffeln durch Milben, p. 253.
- Bernard, N.**, Nouvelles espèces d'endophytes d'Orchidées, p. 245.
- Bokorny, Th.**, Ueber das Bindungsvermögen der Hefe für Farbstoffe und gewisse Metallsalze, p. 237.
- , Das Hefewachstum in mineralischer Nährlösung; Ausbleiben desselben bei Aussaat von Hefespuren, p. 239.
- Boutan, L.**, Un ennemi du café au Tonkin: le *Xylotrechus* du bambou sec., p. 253.
- Buchner, Ed. und Antoni, W.**, Existiert ein Enzym für die Zymase? p. 232.
- Bruni, G.**, Il Bacillo del tifo e le piante, p. 245.
- City of Manchester.** Rivers Department. Annual Report for the Year ending March 29th, 1905, p. 231.
- Corsini, A.**, Sulla vera natura della cosiddetta „albumina“ delle acque termali di Porretta. Di un microorganismo non ancora descritto da quella isolato, p. 228.
- D'heil**, Beitrag zur Frage des Bakteriengehaltes der Milch und des Euters, p. 234.
- Filippo, Silvestri**, *L'Ocnogina betica* (*Ocnogyna baeticum* Ramb.) Conosciuta volgarmente allo stato larvale col nome di Bruco peloso, p. 256.
- Gorini**, Ueber die Gegenwart von säurelabbildenden Bakterien im reifenden Käse, p. 236.
- Hecke, Ludwig**, Zur Theorie der Blüteninfektion des Getreides durch Flugbrand, p. 249.
- Houard, C.**, Variation des caractères histologiques des feuilles dans les galles du *Juniperus Oxycedrus* L. du Midi de la France et de l'Algérie, p. 253.
- , Recherches anatomiques sur les *Diptéroccidies* des *Genévriers*, p. 254.
- , Sur une *Lepidoptéroccidie* intéressante du *Scabiosa columbaria* L., p. 254.

- Kieffer, J. J.**, Description de deux nouveaux genres de Cynipides, p. 255.
—, Notes hyménoptérologiques, p. 255.
- Koch**, Die Maulwurfsgrille (*Gryllotalpa vulgaris* Latr.) als Rindenschädling, p. 257.
- Kolkwitz**, Die Beurteilung der Talsperrenwässer vom biologischen Standpunkt, p. 230.
- Kolle, Friedel, Kutscher und Meinecke**, Milchhygienische Untersuchungen, p. 232.
- Krüger**, Einfluß der Düngung und des Pflanzenwuchses auf Bodenbeschaffenheit und Bodenerschöpfung, p. 240.
—, Ueber die Bedeutung der Nitrifikation für die Kulturpflanzen, p. 241.
- Kusano, S.**, New species of Exoasceae, p. 248.
- Lafar**, Handbuch der technischen Mykologie. 2. Forts., p. 213.
—, Handbuch der technischen Mykologie. 3. Forts., p. 217.
- Lange, H.**, Ueber die Verwendung der Ameisensäure, p. 240.
- Maassen**, Ueber Gallertbildungen in den Säften der Zuckerfabriken, p. 236.
- Magnus, Paul**, Ueber die Gattung, zu der *Rhizophydium Dicksonii* Wright gehört, p. 247.
—, Zwei parasitische *Harpogonium*-Arten und der Zusammenhang einiger Stilben mit *Ovularia* oder *Ramularia*, p. 247.
- Miehe, H.**, Ueber die Selbsterhitzung des Heues, p. 241.
- Momigliano, Enrico**, Esame chimico e batteriologico delle acque potabili de piroscafi addetti al trasporto degli emigranti, p. 227.
- Montemartini, L.**, Note di fisiopatologia vegetale, p. 246.
- Nalepa, Alfred**, Neue Gallmilben, p. 256.
- Peglion, V.**, Sulla presenza in Italia del *Cystopus Lepigoni*, p. 250.
—, Alterazioni delle castagne causate da *Penicillium glaucum*, p. 250.
—, La rogna o tubercolosi del *Nerium Oleander*, p. 250.
—, Intorno alla nebbia o mal bianco dell' *Evonymus japonicus*, p. 251.
- Petri, L.**, Di alcuni caratteri culturali della *Stictis Panizzei* De Not, p. 251.
—, Ulteriori ricerche sopra i batterii che si trovano nell' intestino della larva della mosca olearia, p. 251.
- Rossi, C. e Pirazzoli, F.**, Primo contributo a la bacteriologia delle Carni insaccate sane, p. 226.
- Salmon, Ernest, S.**, The Erysiphaceae of Japan II., p. 246.
- Schellenberg, H. C.**, Das Absterben der sibirischen Tanne auf dem Adlisberg, p. 249.
- Schouteden, H.**, Note complémentaire sur les Aphidocécidies paléarctiques, p. 255.
- Stahl, Walther**, Bakteriologische und chemische Untersuchungen über Verunreinigung und Selbstreinigung kleinerer Flußläufe in der Umgebung von Freiburg i. B., p. 229.
- Stift, A.**, Auftreten der gemeinen Seide auf Zuckerrüben, p. 252.
- Stritter**, Ueber Körper im Serum normaler und pathologischer Milch, welche mit Beta-Naphtalinsulfochlorid reagieren, p. 235.
- v. Tubeuf**, Verlust der Sproßspitzen an Fichten durch Eichhörnchen, p. 258.
- Vogolino, P.**, Interno a lo sviluppo e parassitismo delle septoria graminum Desm. e *S. glumarum* Pass., p. 248.
- Wahl, Bruno**, Zur Kenntnis schädlicher Schmetterlingsraupen. Die Raupe von *Plodia interpunctella* Hw., p. 256.
- Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.**
- Gosio, B.**, I telluriti ed i seleniti come rivelatori delle inquinazioni batteriche, p. 258.
- Perotti, R.**, Di una modificazione al metoda di isolamento dei microorganismi della nitrificazione, p. 258.
—, Di una forma nitrosante isolata da un terreno di Roma, p. 259.
- Entwicklungshemmung und Ver-
nichtung der Bakterien etc.**
- Bokorny, Th.**, Nochmals über die Wirkung stark verdünnter Lösungen auf lebende Zellen, p. 259.
—, Uebereinstimmendes Verhalten der Metalle der Kupfergruppe (Kupfer, Quecksilber, Silber) gegen Zellen niederer Pflanzen, p. 267.
- Bonjean**, Activité de l'eau oxygénée à l'état naissant sur les germes des eaux, p. 269.
- Böttcher**, Wirkt Didymchlorid, ein neues Desinfektions- und Konservierungsmittel, schädlich auf die Pflanzenproduktion? p. 272.
- Buhlert und Fickendey**, Zur Bestimmung der Salpetersäure im Boden, p. 272.
- Eichholz**, Ueber die Konservierung der Milch durch Wasserstoffsperoxyd, p. 271.
—, Verhalten der Kuhmilch zu fuchsin-schwefliger Säure und ein Nachweis des Formalins in der Milch, p. 272.
- Hofer**, Ueber die Vorgänge der Selbstreinigung im Wasser, p. 271.
- Kaup und Adam**, Die Reinigung der gefährlichen Abwässer einer Zuckerfabrik auf biologischem Wege, p. 270.
- Paterno, E. und Cingolani, M.**, Nuovo processo di disinfezione delle acque potabili, p. 269.
- Shalk**, Bekämpfung der Kieferschütte, p. 273.
- Neue Litteratur**, p. 273.

Nachdruck verboten.

Vergleichende Untersuchungen an drei obergärigen Arten von Bierhefe.

Von **Dr. Paul Regensburger.**

Mit 3 Tafeln, 9 Figuren und 4 Kurven.

I. Einleitung.

Der langjährige Streit über die Natur und die systematische Stellung der Hefen ist zu einem gewissen Stillstand gekommen. Die grundlegenden Untersuchungen von E. Chr. Hansen, die Arbeiten seiner Schüler und Nachfolger haben die Kenntnis der Saccharomyceten, insbesondere in morphologischer Beziehung wesentlich erweitert und vertieft. Sie haben auch dazu geführt, ein System der Saccharomyceten¹⁾ aufzustellen, das weit tiefer begründet ist, als dies früher möglich war, und das gewissermaßen den Schlußstein des ganzen Baues bildet, zu welchem Hansen vor mehr als zwei Dezennien den Grund gelegt hat. Allerdings sind es zunächst nur die „Grundlinien“ des neuen Systems, welche Hansen gezeichnet hat; immerhin sind auch diese schon geeignet, den bedeutenden Fortschritt in der Kenntnis der Hefen zu kennzeichnen. Während das System von Reess²⁾ im Jahre 1870 nur eine Gattung mit 7 Arten kannte, umfaßt nach Hansen die Familie der Saccharomyceten 8 Gattungen mit etwa 100 Arten.

Eine je größere Anzahl von Hefen der verschiedenen Gruppen eingehender untersucht ist, um so eher werden allgemeine Gesichtspunkte gewonnen werden, welche den Ausbau des Systems fördern. Nun ist zwar in der zymotechnischen Literatur schon eine große Anzahl der verschiedensten Hefenarten beschrieben, welche bei der Bereitung von Bier, Wein oder Obstwein und in der Brennerei eine Rolle spielen, die meisten jedoch nicht so vollkommen, wie dies von dem jetzt gewonnenen Standpunkt gefordert werden muß.

Besondere Aufmerksamkeit wurde vor allem den untergärigen Bierhefen geschenkt. Hansen hat einige diesbezügliche Abhandlungen³⁾ veröffentlicht, die geradezu vorbildlich für die weitere Behandlung der Frage geworden sind. Die eingehendsten Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte der untergärigen Bierhefen stammen indessen von Will⁴⁾. Seine Arbeiten sind es besonders, welche, abgesehen von der durch morphologische und entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen noch fester begründeten Tatsache der Existenz verschiedener Arten von untergäriger Bierhefe,

1) Hansen, E. Chr., Grundlinien zur Systematik der Saccharomyceten. (Centralbl. f. Bakt. u. Paras. Abt. II. Bd. XII. 1904. No. 19/21.)

2) Reess, M., Botanische Untersuchungen über die Alkoholgärungspilze. Leipzig 1870. p. 74.

3) Hansen, E. Chr., Untersuchungen aus der Praxis der Gärungsindustrie. I. München 1895.

4) Will, H., Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. (Zeitschrift für das gesamte Brauwesen. 1895, 1898, 1899, 1902, 1904 und 1905.)

einen Einblick in das Wesen der Hautbildung bei den Saccharomyceten gestatten und die Gleichwertigkeit der Hautbildungen auf flüssigem Nährsubstrat mit den sogenannten Riesenkolonien auf festem Nährboden nachweisen sowie die wechselnden Formerscheinungen der letzteren zu erklären versuchen.

Während so die Morphologie und Biologie der untergärigen Arten und Rassen von Bierhefe von verschiedenen Seiten eingehend studiert wurde, ist das Studium der obergärigen Bierhefen in dieser Beziehung ziemlich vernachlässigt worden, obgleich der technischen Seite der Herstellung obergäriger Biere namentlich von der Berliner Schule während der letzten Jahre erhöhte Aufmerksamkeit zugewendet wurde. Rein botanische Arbeiten über Oberhefen liegen fast gar nicht vor, die meisten Forscher legten auch hier das Schwergewicht ihrer Studien auf die Erforschung der physiologischen Wirksamkeit der Oberhefen, speziell ihres Verhaltens gegenüber den Kohlehydraten, sowie auf die technische Seite der Frage. Und doch liegt die Wahrscheinlichkeit sehr nahe, daß auch bei den obergärigen Bierhefen ebenso wie bei den untergärigen verschiedene Arten und Rassen auftreten, die sich nicht allein durch ihr physiologisches Verhalten unter sich und von den untergärigen Kulturhefen unterscheiden, sondern auch als ein durch morphologische und entwicklungsgeschichtliche Merkmale Zusammengehöriges betrachtet und den untergärigen Bierhefen gegenüber gestellt werden müssen. Von diesem Gesichtspunkte aus veranlaßte mich Herr Prof. Dr. Hermann Will, München, an der Hand seiner Arbeiten und im steten Vergleich mit den von ihm untersuchten vier untergärigen Bierhefen vergleichende Untersuchungen an einigen Reinkulturen darüber anzustellen, welche Unterschiede im Aufbau und der Gestalt der Zellen bei gleichen äußeren Verhältnissen, bei der Bildung von Endosporen und im Verhalten der obergärigen Hefen bei der Kultur auf festem Nährboden, sowohl bei der Einzell-Kultur als auch bei den Riesenkolonien, auftreten und wie weit diese mit den von ihm an den untergärigen Arten von Bierhefe beobachteten übereinstimmen. Als Material für meine Untersuchungen wurden mir in liebenswürdiger Weise aus der Sammlung der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München drei obergärige Bierhefen in Reinkultur zur Verfügung gestellt. Oberhefe No. 25 entstammt einer Kelheimer Weizenbierbrauerei, Oberhefe Rio einer obergärigen Brauerei in Rio de Janeiro und Oberhefe No. 170 einer französischen Brauerei. Im folgenden seien sie der Kürze halber nur mit ihrer Nummer bzw. ihrem Namen bezeichnet. Meine Untersuchungen erstreckten sich also in erster Linie auf die morphologischen Unterschiede bei den Zellen der gewöhnlichen Alkoholgärungsform, dann auf die Bildung der Sporen und die Entwicklung der Kahmhäute in ihrer Abhängigkeit von der Temperatur und auf das Auftreten der von Will bei den untergärigen Hefen konstatierten verschiedenen Generationen von Kahmhautzellen. Ferner wurden noch sowohl die Wachstumsformen der drei Hefen auf festem Nährboden in Einzell-Kolonien als auch die Entwicklung und der anatomische Bau der sogenannten Riesenkolonien beobachtet. Am Schlusse meiner Ausführungen sind noch einige Versuche über die Differenzierung der drei Hefen durch ihr physiologisch-chemisches Verhalten gegenüber den Zuckerarten angegeben.

Bevor ich zum speziellen Teil dieser Ausführungen übergehe, möchte noch kurz die Frage berührt werden, ob die Erscheinung der Ober- bzw. Untergärung beständige Eigenschaften zweier verschiedener Gruppen

der Gattung *Saccharomyces cerevisiae* sind oder ob diese wechseln können. Bekanntlich unterscheiden sich obergärige und untergärige Hefen in der Praxis und auch bei größeren Laboratoriumsversuchen dadurch, daß die obergärigen Hefen bei den in der Technik üblichen Temperaturen von 15—20° während der Hauptgärung weniger Neigung zeigen, einen festen Bodensatz zu bilden, besonders am Anfang der Gärung, sondern sich in der die Oberfläche der gärenden Flüssigkeit bedeckenden Schaumdecke in großer Menge ansammeln, bei der Untergärung ist eine solche Hefeschicht meistens überhaupt nicht vorhanden oder höchstens in sehr geringer Ausdehnung. Begründet ist diese Erscheinung hauptsächlich dadurch, daß bei den obergärigen Hefen die aus der Mutterzelle in aufeinanderfolgenden Generationen erzeugten Tochterzellen in größeren Sproßverbänden vereinigt bleiben und damit den Auftrieb durch die Kohlensäure erleichtern. Bei der Untergärung kommt es dagegen nur selten zu größeren Sproßverbänden, da die Tochtergenerationen sich sehr bald voneinander ablösen. Früher war die Ansicht allgemein verbreitet, daß Oberhefe und Unterhefe nur Varietäten von *Saccharomyces cerevisiae* seien und leicht ineinander übergeführt werden können. Dies war z. B. noch die Anschauung, welche Rees¹⁾ vertrat; Pasteur²⁾ neigt im allgemeinen zu der gleichen Ansicht, obwohl er bisweilen durch seine Versuche zu dem entgegengesetzten Resultat gelangt³⁾. Hansen⁴⁾ zeigte jedoch durch lange planmäßig fortgesetzte Versuche, daß obergärige und untergärige Hefen zwei verschiedene Gruppen bilden. Er züchtete zahlreiche Generationen von Unterhefe bei den Temperaturen der Obergärung, ohne jemals wirkliche Obergärungserscheinungen beobachten zu können. Andererseits konnte Oberhefe durch fortgesetzte Züchtung bei der niederen Temperatur der Untergärung (5—7°) nicht dazu gebracht werden, die Erscheinungen der Obergärung aufzugeben; sobald sie bei höherer Temperatur weitergezüchtet wurde, trat wieder lebhaftere Obergärung ein. Durch diese während ca. 11 Jahren durchgeführten Versuche hatte sich die Anschauung gefestigt, daß die Erscheinung der Obergärung eine unveränderliche Eigenschaft gewisser Hefearten ist, welche dadurch scharf von den untergärigen Hefearten geschieden werden. Allerdings waren durch Will, Henneberg u. a.⁵⁾ bei Verwendung von Reinkulturen von untergäriger Bierhefe in der Praxis und im Laboratorium Erscheinungen beobachtet worden, welche dafür sprachen, daß eine Umwandlung von untergäriger in obergärige Hefe sich vollziehen könne. In einzelnen Fällen ließen sich diese Hefen durch geeignete Behandlung wieder dazu bringen, Untergärungserscheinungen zu zeigen, in anderen Fällen jedoch nicht. Ob alle diese Erscheinungen gleicher Art sind, ob nicht vielmehr neben wirklichen Obergärungserscheinungen, welche in der Hefe begründet sind, nicht auch, hervorgerufen durch eine besondere Beschaffenheit der Nährlösung, nur der Obergärung ähnliche Erscheinungen vorliegen, läßt sich zur Zeit nicht entscheiden. (Nach den neuesten Untersuchungen von Hansen⁶⁾ scheint jedoch tatsächlich eine Umwand-

1) Rees, M., Botanische Untersuchungen über die Alkoholgärungspilze. p. 8.

2) Pasteur, L., Études sur la bière. Paris 1876. p. 213 und Anmerkung. p. 333.

3) Pasteur, L., *ibid.* p. 189.

4) Hansen, E. Ch., Untersuchungen aus der Praxis der Gärungsindustrie. I. p. 69.

5) Will, H., Erfahrungen mit Reinhefe. (Zeitschrift für das gesamte Brauwesen. 1897. p. 591 ff.) — Henneberg, W., Variation einer untergärigen Hefe während der Kultur. (Wochenschrift für Brauerei. 1900. p. 633.)

6) Hansen, E. Ch., Studien über Variation und Erbllichkeit von Ober- und Unterhefe. (Centralblatt für Bakt. und Paras. Abt. II. 1905. No. 12. p. 353.)

lung von Unterhefeformen in Oberhefeformen bei dünner Schicht der Nährlösung und bei niedriger Temperatur stattzufinden. Inwieweit diese nach der von Hansen angegebenen Methode aus Unterhefe gezüchteten Oberhefen im übrigen die in vorliegender Arbeit aufgeführten charakteristischen Eigenschaften von Arten zeigen, welche, wie beispielsweise No. 25, seit einer sehr langen Reihe von Jahren in der Praxis der obergärigen Brauerei angewendet wurden, müßten erst noch weitere Untersuchungen ergeben. Insbesondere wäre es interessant zu erfahren, ob auch die aus Unterhefen erzeugten Oberhefen sich durch „sparrigen“, ganz unregelmäßigen Wachstumstypus in Einzell-Kolonien und durch ihr Unvermögen, Melibiose zu vergären, auszeichnen.)

Durch die Untersuchungen von A. Bau¹⁾ über das Verhalten der obergärigen Hefen gegenüber Raffinose und von E. Fischer²⁾ über das Fehlen der Melibiase bei denselben ist auf physiologischem Gebiet ein Charakterunterschied zwischen Oberhefe und Unterhefe aufgestellt worden, der auch durch das später konstatierte Vorkommen von Ausnahmen³⁾ nicht an Wert verloren hat. Von Bau⁴⁾ ist das Verhalten von Oberhefe gegenüber Raffinose dazu benutzt worden, ein System des Sammelbegriffes „*Saccharomyces cerevisiae*“ vom chemischen Standpunkt aus aufzustellen. Wohl sind derartige physiologische Hilfsmittel sehr schätzenswert für die Diagnostizierung der einzelnen Hefearten. Aber zur Aufstellung eines natürlichen Systems sind sie durchaus nicht ausreichend, denn dieses soll ja die natürliche Verwandtschaft der einzelnen Rassen oder Arten zum Ausdruck bringen und dazu ist vor allem die möglichst gründliche Erforschung einer großen Anzahl von Kulturhefen nach morphologischen und entwicklungsgeschichtlichen Gesichtspunkten nötig. Erst dann wird die Aufstellung eines Systems der Gattung *Saccharomyces cerevisiae* möglich sein.

Zur Erreichung dieses Zieles einiges beizutragen, sei der Zweck der folgenden Ausführungen.

II. Morphologie der Zellen aus normalen Würzegärungen.

Wenn auch die Form der Hefezellen durch mannigfache Einflüsse äußerer Art, wie Temperatur, Konzentration und chemische Zusammensetzung der Nährlösung, je nach dem Stadium, in welchem sich die Kultur befindet, variiert, so darf doch als feststehend angenommen werden, daß bei unter gleichen äußeren Bedingungen durch zahlreiche Generationen fortgesetzter Kultur die Form und das physiologische Verhalten der Hefezellen wenigstens nicht in auffälliger Weise verändert wird. Außerdem ist durch das Studium von Reinkulturen bekannt, daß bei manchen Arten spezifische Zellformen auftreten oder daß bestimmte, allerdings auch bei anderen Arten vorkommende Zellformen vorherrschend sind. Die Form der Zellen, welche bei einer Hefe unter bestimmten, gleichen Verhältnissen auftritt, kann also sehr wohl ein diagnostisches Merkmal.

1) Bau, A., Ueber das Verhalten von Oberhefe gegenüber Isomaltose und Raffinose. (Wochenschrift für Brauerei. 1894. p. 113.)

2) Fischer, E. und Lindner, P., Ueber die Enzyme einiger Hefen. (Wochenschrift für Brauerei. 1895. No. 40.)

3) Lindner, P., Gärversuche mit verschiedenen Hefe- und Zuckerarten. (Wochenschrift für Brauerei. 1900. p. 49—51.)

4) Bau, A., Der Sammelbegriff *Saccharomyces cerevisiae*. (Wochenschrift für Brauerei. 1894. p. 43.)

wenn auch zweiten Ranges, abgeben; jedenfalls hat es ein gewisses Interesse, auch dieser Frage experimentell näherzutreten. Hierbei bot sich auch gleichzeitig Gelegenheit, den Einfluß der Temperatur sowie denjenigen der Konzentration der in den gärungsphysiologischen Laboratorien am häufigsten als Nährflüssigkeit verwendeten Bierwürze und endlich die Erscheinungen, welche infolge der Lebenstätigkeit der Hefe äußerlich sowohl wie in den Zellen auftreten, näher kennen zu lernen.

Zunächst wurden die drei Versuchshefen von der Würzegeleatine in gewöhnliche Bierwürze (12 Proz. Ball.) gebracht und dann mehrere Male bei Zimmertemperatur in frische Würze weitergeimpft. Das Abimpfen erfolgte jedesmal während der lebhaftesten Gärung, wobei man annehmen konnte, daß sich die überwiegende Mehrzahl der Zellen in gutem Lebenszustand befinde. Nachdem so eine ca. 12-malige Ueberimpfung von Würze in Würze stattgefunden hatte, wurden je zwei Kulturen von jeder Oberhefe mit annähernd gleicher Aussaatmenge bei 10°, 20° und 30° aufgestellt. Als Nährflüssigkeit diente sowohl gewöhnliche Braubierwürze als auch Weizenbierwürze, wie sie die bayerischen „Weißbierbrauereien“ erzeugen, und zwar wurde je ein Versuch mit einer konzentrierten Würze (17 Proz. Ball.) und einer schwächeren Würze (10 Proz. Ball.) durchgeführt. Die Entnahme der Hefeproben zur mikroskopischen Untersuchung erfolgte sowohl zur Zeit des Höhepunktes als auch gegen das Ende der Hauptgärung, wenn die Kohlensäureentwicklung fast aufgehört hatte.

Ueber die Zellformen, welche in diesen Kulturen beobachtet wurden, sei folgendes mitgeteilt:

Hefe Rio bietet im Gegensatz zu den beiden anderen Hefen das typische Bild einer Kulturhefe. Die Zellform ist überwiegend elliptisch, doch kommen auch runde Formen vor. Der Längsdurchmesser der ovalen Zellen schwankt zwischen 9 und 11 μ , der Breitendurchmesser zwischen 7 und 9 μ . Oberhefe Rio scheint große Neigung zur Bildung gestreckter Formen zu besitzen, namentlich bei höherer Temperatur (30°) treten nicht selten wurstförmige Zellen von 14—15 μ Länge und 5—6 μ Breite auf. Auf diese Eigenschaft der Hefe Rio soll auch noch später zurückgekommen werden. Der Inhalt der Zellen war, besonders in jungen Kulturen, sehr homogen, das Lichtbrechungsvermögen des Plasmas nicht so stark, daß man die Vakuolen deutlich vom übrigen Zellinhalt hätte unterscheiden können. Erst bei Behandlung mit Jod traten die Vakuolen deutlicher hervor, oft 2, seltener 3 oder eine in einer Zelle. Hansen¹⁾ konnte bei der Unterhefe Karlsberg No. 2 eine ähnliche Erscheinung beobachten. Im Plasma konnten hier und da einige stark lichtbrechende Körperchen (Granula) beobachtet werden, nie dagegen in den Vakuolen.

Oberhefe 25 besitzt meist rundliche Zellformen, der Längsdurchmesser ist 7—9 μ , der Breitendurchmesser 7—8 μ . Vereinzelt treten große Zellen (14—15 μ Durchmesser) von runder Form auf. Gegenüber dem ziemlich homogenen Plasma der gewöhnlichen Zellen erschien dasselbe in den großen Zellen stark granuliert. Am Ende der Gärung zeigten diese großen Zellen, die sogenannten Riesenzellen, meist Neigung zum Absterben und zu raschem Zerfall. Will²⁾ konnte bei der von ihm

1) Hansen, E. Chr., Untersuchungen aus der Praxis der Gärungsindustrie. I. München. 1895. p. 74.)

2) Will, H., Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. (Zeitschrift für das gesamte Brauwesen. 1895. p. 3.)

beobachteten untergärigen Hefe 7 die gleiche Erscheinung konstatieren. Diese Riesenzellen werden von W. Henneberg¹⁾ als pathologische Formen der Hefe aufgefaßt. Die Vakuolisierung der Oberhefe 25 ist eine reichliche, charakteristisch ist hierbei das Auftreten von stark lichtbrechenden, in lebhafter Bewegung (Brown'sche Molekularbewegung) befindlichen Körnchen (Granula), meist ein größeres, selten 2—3 kleinere, in den Vakuolen. Sind mehrere Vakuolen in einer Zelle vorhanden, so wird gewöhnlich in jeder derselben ein derartiges Körnchen beobachtet. Ueber die Natur und Beschaffenheit derselben soll später berichtet werden²⁾.

Die Zellen der Oberhefe 170 zeigen im allgemeinen kein so gleichartiges Gepräge wie die der Hefen Rio und 25, es treten vielmehr runde, ovale und ovoide Formen auf. Auch die Zellgröße variiert im Gegensatz zu den beiden anderen Hefen ziemlich stark, doch ist die Mehrzahl der Zellen etwas kleiner als bei Hefe Rio und 25. Der Längsdurchmesser betrug ca. 7,5—9 μ , der Breitendurchmesser 7—8 μ . Verhältnismäßig sehr zahlreich treten Riesenzellen auf, welche oft runde, nicht selten aber auch ovale oder „birnförmige“ Gestalt haben. Diese Birnenform ist übrigens auch bei normalen Zellen der Hefe 170 ziemlich häufig. Das Plasma ist bei Oberhefe 170 sehr zur frühzeitigen Vakuolisierung geneigt; oft findet man bei älteren Zellen das Plasma nur in Fäden und Strängen in dem fast ganz von Vakuolen eingenommenen Zellraum verteilt³⁾. Granula in den Vakuolen konnten nicht beobachtet werden.

Bei der mikroskopischen Untersuchung junger Würzekulturen konnte also Stamm Rio und Stamm 25 durch die ziemlich gleichmäßige Zellform, Stamm 25 speziell durch das fast gleichmäßige Auftreten von Granula in den Vakuolen erkannt werden. Stamm 170 ist durch das häufige Vorkommen von Riesenzellen, durch zahlreiche „birnförmige“ Zellen und durch das relativ frühe Eintreten der Vakuolisierung charakterisiert. Irgendwelche schärfer hervortretende Merkmale, welche die obergärigen Hefen schon nach der Zellform von den untergärigen Arten, speziell den von Will beschriebenen 4 Stämmen unterschieden hätten, konnten also nicht konstatiert werden.

Die Temperaturen, bei denen die Kulturen der drei obergärigen Hefen gezogen wurden, hatten im allgemeinen auf die Form der Zellen keinen Einfluß, lediglich Hefe Rio zeigte, wie schon erwähnt, bei höheren Temperaturen Neigung zur Bildung gestreckter, mehr oder weniger wurstförmiger Zellen.

Veränderungen der Zellformen und ihrer Größenverhältnisse infolge höherer Konzentration der Würze oder der verschiedenen chemischen Zusammensetzung derselben konnten bei den vorliegenden drei Hefen nicht beobachtet werden. Die angewandten Nährlösungen, 10-proz. und 17-proz. Gerstenmalz- bzw. Weizenmalzwürze, zeigten in dieser Beziehung wohl zu geringe Differenzen. Auch eine Beeinflussung des Baues der Zellen durch diese Faktoren war nicht zu konstatieren, obwohl bekannt

1) Henneberg, W., Lebensdauer einiger Kulturheferassen in feuchtem Zustand und Einfluß verschiedener Organismen auf diese Hefen. (Wochenschrift für Brauerei. 1904. p. 311.)

2) Siehe p. 297.

3) Bei Gipsblockkulturen konnte hie und da innerhalb der Plasmastränge, speziell am Kreuzungspunkt zweier oder mehrerer derselben, das Auftreten eines stärker lichtbrechenden Körpers mit ovalen verschwommenen Umrissen beobachtet werden. Möglicherweise hat man es hier mit dem ohne besondere Präparation sichtbaren Zellkern zu tun.

ist, daß in stark konzentrierten Würzen, z. B. Bockbierwürze, gezüchtete Hefen eine merkliche Verdickung und unter Umständen auch Schichtung der Zellwände erkennen lassen¹⁾.

Dagegen wird der Verlauf der Gärung, wie bekannt, außerordentlich durch die Temperatur und die Konzentration der Nährlösung beeinflusst. Bei den Kulturen, welche mit der konzentrierteren Würze (17 Proz. Ball.) angestellt wurden, konnte trotz annähernd gleicher Hefeausaat und gleicher Temperatur stets eine Verzögerung des makroskopisch wahrnehmbaren Beginnes der Gärung um 10—20 Stunden gegenüber den Kulturen in 10-proz. Würze konstatiert werden. Mit dem Steigen der Temperatur des Nährsubstrates nimmt also die Wachstumsschnelligkeit ab. Beim Studium des Einflusses der Temperatur auf die Gärung konnten zugleich Beobachtungen über die Kardinalpunkte für die Sprossung bei den drei obergärigen Bierhefen gemacht werden. Nach dem Vorgange Hansens²⁾ wurden zu diesem Zweck von jeder Hefe zwei mit ziemlich gleicher Aussaat geimpfte Freudenreich-Kölbchen, die etwa 12-proz. Würze enthielten und einige Stunden vor dem Impfen bereits bei der betreffenden Temperatur im Thermostaten gestanden hatten, sowie eine Kultur im hängenden Tropfen in einer Böttcherschen feuchten Kammer beobachtet. Hierbei ergab sich, daß bei Oberhefe 25 und 170 bei 42—43° keine Sprossung mehr auftritt. Gärung war innerhalb 24 Stunden nicht zu konstatieren, unter dem Mikroskop erwies sich die Mehrzahl der Zellen als tot bzw. stark geschwächt (Färbung mit Methylenblau). Bei Oberhefe Rio hörte dagegen die Sprossung erst bei 44—45° auf. Bei 0° war innerhalb 24 Stunden bei allen drei Hefen Sprossung und Gärung nicht zu beobachten, dagegen konnte bei 5° ein, wenn auch verzögertes Auftreten von Gärung und Sprossung konstatiert werden. Als Optimum für das Wachstum und die Gärung bei den drei beobachteten Hefen sind die Temperaturen von 28—35° anzunehmen; die Schnelligkeit, mit welcher hier die Gärung einsetzt, macht eine genauere Differenzierung fast unmöglich. So konnte z. B. bei 30° schon nach 5—6 Stunden das Einsetzen der Gärung beobachtet werden. Als charakteristisches Unterscheidungsmerkmal kann der Umstand gelten, daß Oberhefe 25 stets später, bei relativ niedriger Temperatur (10°) um 1—2 Tage, die ersten Gärungserscheinungen zeigte als die Stämme Rio und 170³⁾.

Bezüglich der Form der während der Gärung gebildeten Bodensätze konnten keine durchgreifenden Unterschiede gefunden werden. Die Ausbildung der Schaumdecke war bei Stamm Rio und 25 gleichmäßig und feinblasig, dagegen bei Stamm 170 stets großblasig und hefereich. Letztere Hefe zeichnete sich auch durch eine frühzeitige starke „Ringbildung“ aus. Die Form der Sproßverbände war bei allen drei obergärigen Hefen die gleiche, im Gegensatz zu den untergärigen Hefen mehr eckig und sparrig⁴⁾; auch kommen seitliche

1) Will, H. Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. (Zeitschrift für das gesamte Brauwesen. 1895. p. 226.) — Becker, C., Ueber Schichtung und Färbbarkeit der Membran der Hefezellen. (Zeitschrift für das gesamte Brauwesen. 1899. p. 597.)

2) Hansen, E. Chr., Eine vergleichende Untersuchung über die Bedingungen des vegetativen Wachstums und der Entwicklung der Fortpflanzungsorgane bei den Hefen und Schimmelpilzen der Alkoholgärung. (Zeitschrift für das gesamte Brauwesen. 1902. p. 743.)

3) Siehe Abschnitt VI.

4) Lindner, P., Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben. Berlin. 3. Aufl. p. 357.

Aussprossungen sehr häufig vor, wogegen bei untergärigen Hefen im allgemeinen mehr eine polare Sprossung zu beobachten ist.

Die Verschiedenheit der Temperatur und der Konzentration der Nährlösung, bei der obige Versuche angestellt wurden, gab zugleich Gelegenheit, einige Beobachtungen über das Verhalten des Glykogens bei den drei obergärigen Hefen unter diesen Verhältnissen anzustellen. Daß die Hefezelle tatsächlich ein Glykogen enthält, welches dem Glykogen der tierischen Leber in der chemischen Zusammensetzung gleichkommt, dürfte wohl jetzt außer Zweifel sein. Wenn auch Salkowsky¹⁾ glaubt, daß eine Verwechslung mit Erythrocellulose vorliegt, so ist jedoch diese Ansicht durch die Arbeiten von M. Cremer²⁾, G. Clautriau³⁾ u. a. entschieden widerlegt. Dagegen sind die Anschauungen über die Bedeutung, welche dem Glykogen im Leben der Saccharomyceten und der anderen Pilze zukommt, noch geteilt. Der größere Teil der Gärungsphysiologen, wie Will⁴⁾, Meissner⁵⁾ u. a., betrachtet es als transitorischen Reservestoff, der in der Pilzzelle eine ähnliche Rolle spielt wie die chemisch nahe verwandte Stärke in den Zellen der höheren chlorophyllhaltigen Pflanzen. Henneberg⁶⁾ dagegen ist der Ansicht, daß das Glykogen nur ein Zeichen von reichlicher Anwesenheit von Zucker und ohne besonderen Nutzen für die Hefe sei und deshalb den Namen eines Reservestoffes nicht verdiene. Doch steht wohl Henneberg mit dieser Ansicht vereinzelt da.

Seit der ersten Mitteilung L. Erreras⁷⁾ über das Auftreten von Glykogen in der Hefe liegt eine stattliche Reihe von Arbeiten und Mitteilungen über diesen Körper teils in chemischer, teils in physiologischer Beziehung vor; an dieser Stelle kommen in erster Linie die Arbeit von E. Boullanger und Kayser⁸⁾ und besonders die Resultate der eingehenden Studien Hennebergs in Betracht. Dieselben können durch die mit den drei obergärigen Bierhefen angestellten Versuche vollständig bestätigt werden. Daß die Intensität der Glykogenbildung eine Rasseigentümlichkeit ist, beweist der Umstand, daß unter gleichen Versuchsbedingungen Stamm Rio einen höheren Prozentsatz glykogenhaltiger Zellen aufwies als Stamm 25 und 170. Auch die Abhängigkeit der Glykogenbildung von den die Gärung beeinflussenden Faktoren der Temperatur und Konzentration der Nährlösung konnte beobachtet werden, da bei den Kulturen, welche bei 30° C in verschiedenen Würzen gezüchtet waren, diejenigen mit 10-proz. Würzen schon nach 6 Stunden

1) Salkowsky, E., Die Kohlehydrate der Hefe. (Berichte der deutschen chem. Gesellschaft. Bd. XXVII. 1895. p. 3325, 3329.)

2) Cremer, E., Zucker und Zelle. (Zeitschrift für Biologie. 1895. Heft 1.)

3) Clautriau, G., Das Glykogen der Pilze und der Hefe. (Belgische Akademie der Wissenschaften, Sitzung vom 6. April 1895; durch Zeitschrift für das gesamte Brauwesen. 1895. p. 277.)

4) Will, H., Die Hefezelle, deren Aussehen und Beschaffenheit in den verschiedenen Stadien ihrer Entwicklung und ihres Zerfallens unter dem Mikroskop. (Allg. Brauer- und Hopfenztg. 1892. p. 1088.)

5) Meissner, G., Das Auftreten und Verschwinden des Glykogens in der Hefezelle. (Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde. Abt. II. 1900. p. 517.)

6) Henneberg, W., Ueber das Vorkommen von Glykogen bei Brennerihefen, Preßhefen und obergärigen Brauereihefen. (Zeitschrift für Spiritusindustrie. 1902. p. 35—39.)

7) Errera, L., Sur l'existence du glykogène dans la levure de bière. (Compt. rend. de l'Académie des Sciences de Belg. 1885. p. 253.)

8) Boullanger, E. und Kayser, E., Ueber die Glykogenbildung in der Hefe. (Ann. Brass. et Destill. 25. Febr. 1898.)

eine relativ starke Glykogenbildung erkennen ließen, während in den in höherprozentiger Würze gezüchteten Kulturen erst nach 16—20 Stunden eine größere Anzahl glykogenhaltiger Zellen nachgewiesen werden konnte. Bei niedrigerer Temperatur (10°) fand sowohl eine relativ späte Bildung von Glykogen als auch ein langsames Verschwinden desselben aus der Zelle statt. Das Glykogen wurde mit verdünnter (ca. 0,1-proz.) Jodlösung nach den Angaben von R. Braun¹⁾ nachgewiesen. Bei Behandlung der Hefe mit Jodlösung erscheinen in den Zellen zu Beginn der Gärung engumgrenzte, tief dunkelbraun gefärbte Stellen, in zahlreichen Fällen 2—3 in ein und derselben Zelle. Im weiteren Verlauf der Gärung wuchsen diese zerstreuten Glykogenbildungsherde und verschmolzen zu einer mehr oder minder scharf begrenzten Masse, die oft im optischen Querschnitt halbmondförmige Gestalt besaß. Mit Eintritt des Gärungsmaximums zeigten die meisten Zellen nach Behandlung mit Jodlösung eine den ganzen Zellraum ausfüllende Braunfärbung, die indessen gegen die Zellmembran zu etwas heller erschien. Bei der Sprossung verschwand das Glykogen aus der Mutterzelle, um bald jedoch in den Tochterzellen wieder aufzutreten, wie die Behandlung mit Jodlösung ergab. Indessen war auch in den älteren Zellen größerer Sproßverbände, wie besonders bei Hefe Rio und 170 beobachtet werden konnte, das Vorhandensein reichlicher Glykogenmengen zu konstatieren, es scheint also in diesen eine Neubildung des Glykogens stattgefunden zu haben. Das Auftreten von Glykogen auch in den verschiedenen Zellelementen bei der Hautbildung auf flüssigem Nährboden und bei den Wachstumserscheinungen auf festem Nährsubstrat wird in den folgenden Abschnitten noch weitere Erwähnung finden.

Es wurde bereits darauf hingewiesen, daß bei den drei obergärigen Hefen in älteren Zellen fast regelmäßig stark lichtbrechende Granula sowohl im Cytoplasma als auch insbesondere bei Hefe 25 in den Vakuolen auftreten. In jungen, kräftigen Zellen der Oberhefen Rio und 170 waren diese Granula nur selten zu beobachten, dagegen waren dieselben regelmäßig in älteren Zellen des Bodensatzes und der Kahlhaut, in toten Zellen und besonders in Riesenzellen vorhanden. In letzteren zeigten sie häufig im optischen Querschnitt eine kranzförmige Anordnung um die Vakuolen. Mit zunehmendem Alter der Kultur nahm auch die Größe der Granula zu, indem oft in den stark hungernden und nicht selten bereits absterbenden Zellen sich die relativ große Anzahl kleiner Körperchen in 2—3 große glänzende, den Sporen „wilder“ Hefe nicht unähnliche Tropfen vereinigt hatte. Auch die Granula in den Vakuolen der Oberhefe 25 wuchsen mit zunehmendem Alter der Zellen.

Sowohl die im Cytoplasma als auch die in den Vakuolen vorkommenden Granula lassen sowohl durch die Schwarzfärbung mit 1-proz. Ueberosmiumsäure als auch durch die — allerdings in manchen Fällen nicht eintretende — Rotfärbung mit Alkannatinktur erkennen, daß sie im wesentlichen aus fett- oder ölarartigen Substanzen bestehen. Dagegen ergeben sich hinsichtlich ihrer Löslichkeit in verschiedenen Lösungsmitteln bemerkenswerte Unterschiede. Alkohol, Aether, Chloroform, Schwefelkohlenstoff und verdünnte Alkalilösung, letztere besonders in der Wärme, lösen die kleineren Granula des Plasmas bei genügend langer Einwirkung des Lösungsmittels ziemlich rasch, etwas schwieriger gestaltet

1) Braun, R., Nachweis des Glykogens in Hefezellen. (Zeitschrift f. d. gesamte Brauwesen. 1901. p. 307.)

sich die Lösung größerer Granula, wenigstens so lange sie nicht durch Zerstörung der Zellmembran aus der Zelle entfernt werden. Den meisten Widerstand setzen jedoch die in den Vakuolen der Oberhefe 25 befindlichen Granula diesen Lösungsmitteln entgegen. Vielleicht werden sie gegen deren Einwirkung durch die aus plasmatischer Substanz bestehende Vakuolenhaut geschützt.

Will¹⁾ unterscheidet zwei Arten von Granulis in den Zellen der Saccharomyceten. Die Grundsubstanz der ersten Art, der „Oelkörperchen“, besteht aus Eiweißverbindungen und ist mit fett- oder ölarziger Substanz durchsetzt; nicht selten überzieht auch diese Grundsubstanz die Fettkörperchen mit einer oberflächlichen Haut, von der aus Fäden und Stränge in das Innere des Körperchens ziehen. Bei der Lösung der Fettsubstanzen bleibt die eiweißartige Grundsubstanz in Form eines feinhäutigen, oft mit Maschenwerk erfüllten Bläschens zurück. Die zweite Art der Granula, die „Oeltröpfchen“, besitzen eine derartige protoplasmatische Grundsubstanz nicht.

In vorliegenden Untersuchungen konnte das Vorhandensein eines die Granula umhüllenden Bläschens oder eines Maschenwerkes nach Lösung der Fettsubstanz nicht beobachtet werden. Allerdings ist auch das Vorhandensein desselben nicht ausgeschlossen, nachdem auch die Granula im Plasma und in den Vakuolen sich mit Jodlösung gelb, mit konzentrierter Salpetersäure und Ammoniak orange (Xanthoproteinreaktion) färbten und somit die für Eiweißsubstanzen charakteristischen Reaktionen gaben.

Dagegen konnte die Angabe Wills²⁾, daß sich die Granula hinsichtlich ihres Verhaltens gegen konzentrierte Schwefelsäure unterscheiden, vollkommen bestätigt werden. Nach Will färben sich die Granula der Bodensatzhefe, also der gewöhnlichen Alkoholgärungsform, mit konzentrierter Schwefelsäure nicht, dagegen tritt bei den Granulis der Hautzellen, besonders aber der Dauerzellen eine immer intensiver werdende Grünfärbung auf. Letztere Erscheinung wurde auch regelmäßig in den Hautzellen sowie in den als Dauerzellen anzusprechenden Zellen der drei obergärigen Hefen beobachtet, ebenso in den Zellen älterer Riesenkolonien. Dagegen konnte bei den Granulis der Alkoholgärungsform, sowohl bei den im Plasma als auch bei den in den Vakuolen eingeschlossenen nach der Behandlung mit konzentrierter Schwefelsäure höchstens eine leichte Gelbfärbung konstatiert werden.

III. Sporenbildung.

Bei der Prüfung von Hefen auf Sporenbildung handelt es sich um die Festlegung von zwei Momenten, welche für ihre Charakteristik von Bedeutung sind: um die Ermittlung der Temperaturgrenzen, innerhalb welcher überhaupt eine Bildung von Endosporen stattfindet, und um die Festlegung der Zeit, nach Verlauf welcher bei verschiedenen Temperaturen die ersten Anlagen der Endosporen sichtbar sind.

Die drei obergärigen Bierhefen wurden in bekannter Weise zur Sporenbildung vorbereitet, indem sie wiederholt in frische Bierwürze übergeimpft und 24 Stunden vor dem Anlegen der Sporenkultur nochmals in Würze bei 25° aufgefrischt wurden; dann erfolgte das Anlegen

1) Will, H., Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. (Zeitschrift für das gesamte Brauwesen. 1895. p. 18.)

2) Will, H., *ibid.* 1895. p. 286.

der Kulturen auf sterilisierten feuchten Gipsblöcken. Bei den Oberhefen Rio und 25 genügte eine derartige Behandlung vollständig, um Sporenbildung in den Zellen hervorzurufen. Dagegen ergaben sich bei Hefe 170 anfänglich Schwierigkeiten. Die Kulturen dieser Hefe mußten infolge besonderer Umstände einige Zeit bei höheren Temperaturen (30—35°) gezüchtet werden und zeigten nach dieser Zeit trotz wiederholten Auffrischens der Kulturen keine Neigung zur Sporenbildung. Daß Hefen durch längeres Züchten bei höherer Temperatur das Vermögen der Sporenbildung verlieren, hat auch Hansen¹⁾ beobachtet; er gibt hierbei ein Mittel an, die Hefen wieder zur Bildung von Endosporen zu bringen, nämlich die Kultur in Dextrosehefewasser. Dieses Mittel hatte auch bei Oberhefe 170 Erfolg, indem nach dem Züchten derselben in dieser Nährlösung und nachfolgendem Auffrischen der Kultur in Würze reichlich Sporenbildung auftrat.

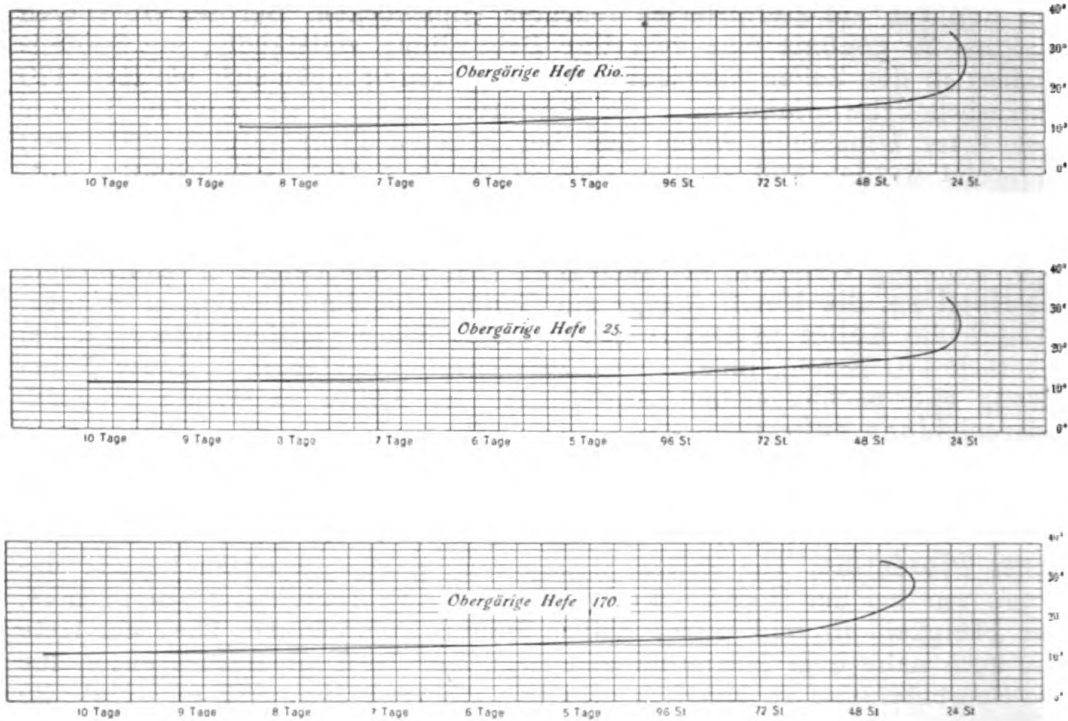
In Bezug auf die Häufigkeit der sporenführenden Zellen ergaben sich bei den drei obergärigen Hefen bemerkenswerte Unterschiede. Die Hefen Rio und 170 zeigten bei der Gipsblockkultur stets einen relativ hohen Prozentsatz von Zellen, welche zum Ascus geworden waren, dagegen war bei der Hefe 25 die Intensität der Sporenbildung eine geringe. Die Fähigkeit, in zahlreichen Zellen Sporen zu erzeugen, blieb der Hefe Rio auch nahe dem Maximum und Minimum der Temperaturgrenzen für die Sporenbildung so ziemlich erhalten, während Hefe 170 und Hefe 25 unter den gleichen Verhältnissen nur schwache Neigung zur Sporenbildung zeigten.

Ueber die Temperaturgrenzen für die Sporenbildung und über die Abhängigkeit der Sporenbildung von verschiedenen Temperaturen gibt die folgende Tabelle Aufschluß. Als maßgebend für die Festlegung der Zeitpunkte wurde der Moment gewählt, an welchem eben die ersten Sporenanlagen in den Zellen beobachtet werden konnten. Im Nachstehenden sind diese Verhältnisse in sogenannten „Sporenkurven“ graphisch dargestellt, indem die Temperaturen als Ordinaten und die zu diesen gehörigen Zeiten als Abscissen aufgetragen wurden.

Tabelle I.

| Temperatur ° C | Oberhefe Rio | Oberhefe 25 | Oberhefe 170 |
|-------------------|--|--|--|
| | Die ersten Sporenanlagen erscheinen nach | Die ersten Sporenanlagen erscheinen nach | Die ersten Sporenanlagen erscheinen nach |
| 37 | — | — | — |
| 34—35 | 26 Stunden | — | 42 Stunden |
| 32—33 | 24 „ | 26 Stunden | 36 „ |
| 30—29 | 23 „ | 24 „ | 33 „ |
| 27—28 | 22 „ | 23 „ | 34 „ |
| 24—25 | 23 „ | 24 „ | 37 „ |
| 21—22 | 25 „ | 27 „ | 45 „ |
| 17—18 | 42 „ | 48 „ | 60 „ |
| 14—15 | 90 „ | 95—100 „ | ca. 100 „ |
| 11—12 | 8—9 Tagen | 9—10 Tagen | 10—11 Tagen |
| 8—9 | — | — | — |

1) Hansen, E. Chr., Ueber die Entstehung von Varietäten bei den Saccharomyceten. (Zeitschrift f. d. gesamte Brauwesen. 1890. p. 145.)



Aus der Tabelle geht zunächst hervor, daß die unterste Temperaturgrenze für die Sporenbildung für alle drei Oberhefen die gleiche ist: bei 8—9° konnte trotz einer Beobachtungsdauer von 3 Wochen keine Sporenbildung konstatiert werden. Bezüglich des Temperaturmaximums ergaben sich insofern Unterschiede, als bei der Hefe 25 das Maximum für die Sporenbildung etwas tiefer liegt als bei den zwei anderen Hefen. Oberhefe 25 gleicht also sowohl in dieser Beziehung als auch bezüglich ihrer geringen Neigung zur Sporenbildung sehr dem Stamme 7 der von Will¹⁾ untersuchten untergärigen Bierhefen, der ja ebenso wie Hefe 25 zu den niedrigvergärenden Hefen (Typus Saaz) gehört²⁾.

Eine sehr frühzeitige Entwicklung der Sporen, wie sie im allgemeinen für die obergärigen Hefen bekannt und charakteristisch ist, wurde nur bei den Hefen Rio und 25 beobachtet. Beide lassen beim Temperaturoptimum schon nach 22 bzw. 23 Stunden die ersten Sporenanlagen erkennen, zeigen also ähnliche Verhältnisse wie die von Hansen³⁾ beschriebene obergärige Hefe *Saccharomyces cerevisiae* I (jetzt *Sacch. cerevisiae* E. Chr. Hansen). Dagegen liegt bei Hefe 170 das Optimum etwas höher (29—30°); die Zeit für das Sichtbarwerden der ersten Sporenanlagen beim Temperaturoptimum wurde durch mehrfach wiederholte Versuche bei 33 Stunden festgestellt.

Vergleicht man diese Resultate mit den von Will¹⁾ für seine vier untergärigen Bierhefen ermittelten Sporenkurven, so ist zunächst ersichtlich, daß bei den drei obergärigen Hefen die Maximaltemperatur für die Sporenbildung im allgemeinen höher liegt. Dagegen liegen die Minimal-

1) Will, H., Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. (Zeitschrift für d. ges. Brauwesen. 1895. p. 9.)

2) Siehe VI. Abschnitt. p. 55.

3) Hansen, E. Chr., Die Askosporen bei der Gattung *Saccharomyces*. (Zeitschrift für das ges. Brauwesen. 1883. p. 403.)

temperaturen gleich tief wie bei den untergärigen Hefen, von denen nur Stamm 7 insofern eine Ausnahme macht, als das Temperaturminimum bei dieser Hefe schon bei 13° liegt. Hinsichtlich der Zeitdauer bis zum Sichtbarwerden der ersten Sporenanlagen schließen sich die Oberhefen Rio und 25 der Oberhefe *Saccharomyces cerevisiae* E. Chr. Hansen, die Hefen 170 dagegen den vier untergärigen Hefen Wills an. Am besten werden diese Unterschiede wohl durch eine vergleichende Nebeneinanderstellung der untersuchten drei obergärigen Hefen, der obergärigen Hefe *Saccharomyces cerevisiae* E. Chr. Hansen und der vier untergärigen Bierhefen Wills verdeutlicht.

Tabelle II.

| Bezeichnung der Hefe | Maximum | | Optimum | | Minimum | | |
|---|-------------------------|---|------------|---|----------------------------------|---|----------------------------------|
| | ° C | Die ersten Sporenanlagen werden sichtbar nach | ° C | Die ersten Sporenanlagen werden sichtbar nach | ° C | Die ersten Sporenanlagen werden sichtbar nach | |
| Hefen { obergärige untergärige | Rio | 34—35 | 26 Stunden | 27—28 | 22 Stunden | 11—12 | ca. 8—9 Tagen |
| | 25 | 32—33 | 26 " | 27—28 | 23 " | 11—12 | ca. 10 " |
| | 170 | 34—35 | 42 " | 29—30 | 33 " | 11—12 | ca. 10—11 " |
| | Sacch. cerev. Hansen | 36—37 | 29 " | 30 | 20 " | 11—12 | 10 " |
| | Stamm 2 (Will) | 31 | 47 " | 25 | 31 " | 11 | 9 ¹ / ₂ " |
| | " 7 " | 30 | 50 " | 26 | 31 ¹ / ₂ " | 13 | 5 ¹ / ₂ " |
| | " 6 " | 31 | 51 " | 28 | 33 ¹ / ₂ " | 11 | 11 " |
| | " 93 " | 30 | 48 " | 28 | 31 " | 10 | 10 ¹ / ₂ " |

Es sei an dieser Stelle gerade darauf hingewiesen, daß die Hefe 170 die Erscheinungen der Obergärung am deutlichsten hervortreten ließ und auch ihr physiologisches Verhalten gegenüber Raffinose¹⁾ sie als obergärige Bierhefe charakterisierte.

Der Bau der Sporen ist bei den drei obergärigen Bierhefen im wesentlichen derselbe wie bei untergärigen Kulturhefen; die Membran ist deutlich sichtbar, der Inhalt der Sporen meist nicht homogen, sondern oft vakuolisiert. Das Plasma ist etwas stärker lichtbrechend als bei untergärigen Hefen, jedoch nicht in dem Grade, wie es gewöhnlich bei „wilden“ Hefen beobachtet wird. Die Anzahl der Sporen in einer Zelle schwankt zwischen 1 und 4. Irgendwelche Unterschiede zwischen den drei obergärigen Hefen bezüglich des Baues der Sporen konnten nicht konstatiert werden; lediglich die Hefe Rio zeichnete sich in vielen Kulturen durch besonders häufiges Auftreten von „Scheidewandbildungen“, hervorgerufen durch die stark aufgequollenen und durch die gegenseitige Pressung abgeplatteten Sporen, aus.

Das Hansensche Gesetz, daß bei den Saccharomyceten die Temperaturgrenzen für die Sporenbildung innerhalb derjenigen für die Sprossung liegen, gilt nach den vorstehenden Untersuchungen also auch für die 3 beobachteten obergärigen Bierhefen.

1) Siehe VI. Abschnitt.

IV. Hautbildung.

A.

Die Bildung von Häuten auf der Oberfläche flüssiger Nährsubstrate ist bekanntlich eine Eigenschaft, welche den verschiedensten Mikroorganismen, Bakterien, Schimmelpilzen, Saccharomyceten und diesen nahestehenden Pilzformen (*Torula*) zukommt. Trotzdem wurde diese Erscheinung erst von Hansen¹⁾ in ihrem vollen Umfang für die Charakterisierung der Saccharomyceten und für die Unterscheidung der einzelnen Arten derselben verwendet. Reess²⁾ hat nur einige kurze Andeutungen über diese Art der Vegetation gemacht und auch Pasteur³⁾ ist über den Ursprung dieser Erscheinung noch im unklaren; während er einerseits die Ansicht ausspricht, daß die an der Oberfläche vergorener Flüssigkeiten auftretenden Hefezellen eine Entwicklungsform der gewöhnlichen Bodensatzhefe sind, neigt er andererseits doch wieder der Anschauung zu, daß die Hautzellen Formen einer zweiten „aërobischen“ Hefeart seien, welche der zu seinen Versuchen verwendeten Hefe beigemischt gewesen sei. Hansen war es auch, der die ersten entwicklungsgeschichtlichen Studien an den Häuten der Saccharomyceten machte, die Abhängigkeit ihrer Bildung von der Temperatur darlegte und das Gesetz aufstellte, daß einerseits die Grenzen der Temperatur für die Hautbildung bei den Saccharomyceten stets tiefer bzw. höher (Temperaturminimum) liegen, als diejenigen für die Sprossung in der Nährflüssigkeit, daß aber andererseits jene höher bzw. niedriger als diejenigen für die Sporenbildung sind. Während so durch Hansen die Grundlagen geschaffen wurden, war es Will⁴⁾ vorbehalten, unsere Kenntnisse über die Entwicklungsgeschichte der Saccharomycetenkahnhäute weiter auszubauen und zu vervollständigen. Da die folgenden Ausführungen sich eng an seine Angaben anschließen, sollen diese nachstehend ihrem wesentlichen Inhalt nach wiedergegeben werden.

Will fand, daß der Beginn der Hautbildung bei untergärigen Hefen morphologisch durch das Auftreten kleiner ovaler Zellen gekennzeichnet ist. Diese entstehen an einzelnen Zellen der Bodensatzform bzw. deren Tochtergenerationen, welche durch die Ausscheidungen der Schaumdecke an der Oberfläche der gärenden Würze oder längs des Flüssigkeitsrandes zurückgehalten werden. Besonders charakteristisch für diese, als „erste Generation echter Hautzellen“ bezeichneten Zellformen ist die Erscheinung, daß sie gleichzeitig in größerer Anzahl an ihren Ursprungszellen hervorsprossen. Die anfangs ovalen kleinen Zellen mit homogenem, nur wenige stark lichtbrechende Körperchen (Granula) enthaltendem Plasma strecken sich in den späteren Generationen und es entstehen allmählich sproßverbände wurstförmiger und gestreckt wurstförmiger Zellen. Diese unterscheiden sich, trotz mancher Aehnlichkeit in der Form, von den in der zweiten Entwicklungsphase auftretenden gestreckten Zellen, durch ihre geringe Größe und vor allem durch ihre

1) Hansen, E. Chr., Ueber die Kahnhäute bei der Gattung *Saccharomyces*. (Nach Meddelsers fra Carlsberg Laboratoriet, Band II. Heft 4, durch Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. 1886. p. 374 ff.)

2) Reess, M., Botanische Untersuchungen über die Alkoholgärungspilze. Leipzig 1870. p. 70 ff.

3) Pasteur, L., Études sur la bière. Paris 1876. p. 201 ff.

4) Will, H., Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. (Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. 1895. p. 17 ff.)

zartere Beschaffenheit. Die Zellen der Bodensatzform bezw. deren Tochterzellen, welche an der Oberfläche der gärenden Würze zurückgehalten wurden, bleiben geraume Zeit noch als solche in der Haut zurück. Später verdickt sich ihre Membran sehr stark unter gleichzeitiger Aufspeicherung von Reservestoffen: es bilden sich die für ältere Häute so charakteristischen „Dauerzellen“ aus. Diese Dauerzellen entwickeln dann früher oder später sproßverbände langgestreckter, derber wurstförmiger Zellen. Nicht selten entstehen auch mycelartige Zellen, in welchen Querwände auftreten können. Charakteristisch für die Keimung der Dauerzellen ist auch das Auftreten keulenförmiger Zellen. Diese sproßverbände langgestreckter derber Formen stellen die zweite Generation echter Hautzellen dar. Die Hautbildungen zeigen also zwei durch festbestimmte Zellformen verschiedener Art charakterisierte Entwicklungsphasen. (Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Frage der Schwefelwasserstoffbildung durch Hefe¹⁾.

Von **H. Will** und **H. Wanderscheck**.

Schander²⁾ hat bei seinen Untersuchungen hauptsächlich eine größere Anzahl von Weinhefen, daneben aber auch andere Weinorganismen (*Kahm*, *Sacch. anomalus*, *Sacch. apiculatus* u. s. w.) der Hefereinzuchtstation in Geisenheim am Rhein auf ihre Fähigkeit, Schwefelwasserstoff zu bilden, geprüft. Wie schon früher bemerkt³⁾, tritt er jedoch nach unseren Beobachtungen nicht nur bei der Vergärung von Trauben- und Obstmost auf, sondern auch bei der Biergärung, bei Vergärung von gehopfter Malzwürze und zwar nicht nur bei Gegenwart von wilder Hefe, sondern selbst von Bierhefe. Bestimmtere Angaben fehlen jedoch bisher in der Literatur. Durch eine Mitteilung aus der Praxis⁴⁾ wurde darauf hingewiesen, daß diese Schwefelwasserstoffbildung aus Bierwürze, welche sich zwar gewöhnlich kaum in auffälliger Weise bemerkbar macht, die volle Aufmerksamkeit des Brauers verdient. Wir haben daher Versuche, welche schon im Winter 1903/04 begonnen wurden, aber unterbrochen werden mußten, im Laufe des Sommers 1905 wieder aufgenommen. Gleichzeitig erweiterten wir die Untersuchungen dahin, daß nicht nur ober- und untergärrige Kulturhefen, sondern teilweise im Brauereibetrieb aufgefundene wilde Hefen geprüft wurden. Auch noch andere Arten, darunter die durch starke Schwefelwasserstoffbildung ausgezeichnete Weinhefe *Barbera* (italienischer Herkunft) aus

1) Nach Mitteilungen der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München. (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. Bd. XXIX. 1906. No. 6 u. 7, p. 73—78 und 89—96.)

2) Jahresber. d. Vereinigung der Vertreter der angew. Botanik. 1903/04, Bd. II. p. 85.

3) Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. Bd. XXVIII. 1905. p. 108. Es möge hier noch darauf hingewiesen sein, daß in dem 6. Jahresbericht der wissenschaftlichen Station pro 1881/83, p. 57 darauf aufmerksam gemacht wird, wie bei häufig ganz normalen Gärungen in Bierwürze eine sehr starke Schwefelwasserstoffentwicklung vor sich geht, die sich schon durch den Geruch erkennen läßt. Reischauer habe seinerzeit darauf aufmerksam gemacht. Eine Angabe über die Stelle, an welcher Reischauer diese Bemerkung macht, fehlt.

4) Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. Bd. XXVIII. 1905. p. 285.

unserer Sammlung, zogen wir mit in den Kreis unserer Untersuchungen. Insgesamt wurden 29 Hefen (Saccharomyceten) und eine *Mycoderma*-Art geprüft.

Die Versuche, welche uns zunächst beschäftigten und in der Zeitschrift für das gesamte Brauwesen ausführlich mitgeteilt sind, hatten einige praktische Fragen ins Auge gefaßt. Vor allem sollte gezeigt werden, daß überhaupt und in welchem Grade die Versuchshefen in der gleichen Würze und in solchen verschiedener Herkunft Schwefelwasserstoff zu entwickeln vermögen.

Versuchsanstellung.

200 ccm fassende Pasteur-Kölbchen wurden mit je 100 ccm Brauwürze von 13—14 Proz. Ball. gefüllt, eine halbe Stunde im strömenden Dampf sterilisiert und nach mehrtägigem Stehenlassen zwecks Lüftung mit den in gehopfter Bierwürze wiederholt aufgefrischten Reinkulturen geimpft. Von den aufgeschüttelten Kulturen in $\frac{1}{8}$ l Pasteur-Kölbchen kamen annähernd gleichgroße Mengen (3—4 ccm) zur Einimpfung.

Der Nachweis von Schwefelwasserstoff geschah in der Weise, daß mit einer Lösung von essigsauerm Blei getränkte Filtrierpapierstreifen von ca. 10 cm Länge und 2 cm Breite in ein kurzes Reagenzglas eingeführt und dieses über das nach aufwärts ragende Ende des doppelt gelegenen Rohres des Pasteur-Kolbens gestülpt wurde.

Die Beobachtung der Kulturen dauerte bei Zimmertemperatur, ohne dieselben aufzuschütteln, so lange, bis die Gärung der Würze beendet war. Die Kulturen von *Mycoderma* und *Willia* wurden nach kräftiger Hautbildung etwa vom 6. Tage ab wiederholt durchgeschüttelt und noch weitere 6—8 Tage beobachtet.

Eine wahrnehmbare Reaktion trat gewöhnlich erst gegen Ende der Hauptgärung ein. Bei später durchgeführten Versuchen, bei welchen etwa 250 ccm Würze mit 10 ccm dünnbreiiger Betriebshefe geimpft wurden, haben wir jedoch zuweilen auch sehr bald nach der Hefegabe, bevor noch Gärungserscheinungen auftraten, eine leichte Bräunung des vorgelegten Bleipapiers beobachtet. Eine stärkere Entwicklung von Schwefelwasserstoff erfolgte auch in diesen Fällen erst gegen Ende der Hauptgärung. Beachtenswert ist der rasche Rückgang der eingetretenen Reaktion bei einzelnen Versuchshefen. Das geschwärzte Bleipapier blaßte sehr rasch ab.

Die Ergebnisse der Versuche sind in der Originalmitteilung tabellarisch zusammengefaßt. Es geht aus ihnen hervor, daß der größere Teil der Versuchshefen in der gleichen Würze zur Bildung von Schwefelwasserstoff befähigt ist und zwar ist die Reaktion im allgemeinen bei den Kulturhefen stärker als bei den wilden Hefen.

Als Quelle für den bei der Vergärung der Bierwürze entstehenden Schwefelwasserstoff kommen wohl in erster Linie Eiweißverbindungen und dann auch Sulfate in Betracht. Da aber Bierwürzen aus verschiedenen Braustätten bei gleichem Sudverfahren, wenn auch nur innerhalb gewisser Grenzen, quantitativ, vor allem aber qualitativ, insbesondere hinsichtlich der Eiweißkörper, verschieden zusammengesetzt sein können, deren Nährwert für die Hefe auch ein verschiedener sein kann, so war zu erwarten, daß die Entwicklung von Schwefelwasserstoff durch die gleiche Hefe in Bierwürze verschiedener Herkunft unter sonst gleichen

äußeren Bedingungen eine verschiedene ist. Die Versuchsergebnisse mit 6 gehopften Würzen bestätigen diese Annahme.

Im einzelnen sei darauf hingewiesen, daß bei den vier untergärigen Bierhefen Stamm 2, 6, 7 und 93 fast in allen Fällen die Entwicklung von Schwefelwasserstoff eine nahezu gleichmäßige war. Die Abhängigkeit der Reaktion von der Zusammensetzung der Würze macht sich offenbar bei der Würze aus der Brauerei D bemerkbar, bei welcher unter fast gleichen Bedingungen die Reaktion durchgehends nur eine mäßige ist, während sie bei den übrigen in den meisten Fällen eine starke, bezw. mäßige bis starke, also jedenfalls eine gesteigerte ist.

In einem gewissen Gegensatz zu unseren vier Stammhefen steht Hefe Froberg, welche innerhalb der gleichen Beobachtungszeit bei der Versuchswürze C überhaupt keine Reaktion gab, trotzdem diese offenbar größere Mengen von Verbindungen enthielt, aus welchen von anderen Hefen Schwefelwasserstoff gebildet werden konnte. Bei Würzen aus drei anderen Brauereien konnte nur eine schwache, bezw. mäßige Reaktion festgestellt werden.

Aehnliche Verschiedenheiten wie die untergärigen zeigen auch die obergärigen Hefen. Oberhefe 28 gab in Würze D, in welcher unsere vier untergärigen Stammhefen nur eine mäßige und Oberhefe 170 nur eine sehr schwache Reaktion verursachten, sogar eine sehr starke.

Vielleicht vermag diese obergährige Rasse auch aus solchen schwefelhaltigen Würzebestandteilen, welche von anderen Hefen nicht angegriffen werden, noch Schwefel abzuspalten. Oberhefe Rio vermochte aus drei der Versuchswürzen überhaupt keinen Schwefelwasserstoff zu entwickeln, bei den übrigen war die Reaktion höchstens mäßig; ähnlich verhielt sich *Sacch. cerevisiae* Hansen.

Die stärkste Reaktion ergab in allen Fällen *Schizosaccharomyces Pombe*. Möglicherweise ist diese Hefe in noch viel höherem Maße als Oberhefe 170 befähigt, auch aus solchen Würzebestandteilen Schwefelwasserstoff zu produzieren, welche andere Hefen nicht anzugreifen vermögen.

Sehr auffällig sind die vielen Lücken bei der ungehopften Würze der Brauerei G, welche auf 13 Proz. Ball. gebracht worden war. Außerdem steht den wenigen Bemerkungen über starke Reaktion die doppelte Anzahl über schwache bis sehr schwache gegenüber. Da wir bis jetzt nur eine ungehopfte Würze geprüft haben, läßt sich nicht entscheiden, ob nur ein Ausnahmefall vorliegt, oder ob es die Regel ist, woraus sich wichtige Schlußfolgerungen ergeben würden.

Die aus geschwefeltem Malz hergestellte Würze H von 13 Proz. Ball. läßt gegenüber den übrigen Würzen im allgemeinen keine stärkere Schwefelwasserstoffbildung erkennen.

Den geprüften Arten von *Mycoderma* und *Willia* sowie *Pichia membranaefaciens* geht, wenngleich in Würze in allen Versuchsreihen eine Reaktion fehlte, das Vermögen der Schwefelwasserstoffbildung nicht ab; es bedarf jedoch hierzu besonderer Bedingungen.

Ein Unterschied zwischen Betriebshefen aus Reinzucht hervorgegangen und deren Stammkulturen, welche bei der Aufbewahrung in gehopfter Bierwürze alle unter diesen Verhältnissen im Laufe der Zeit auftretenden Veränderungen (Hautbildung u. s. w.) aufwiesen, konnte nicht festgestellt werden.

Wenn die Annahme richtig wäre, daß geschwächte Kulturen in höherem Grade Schwefelwasserstoff zu entwickeln vermögen, dann müßte

dies in erster Linie für die in 10-proz. Saccharoselösung mehrere Jahre aufbewahrten Reinkulturen zutreffen. Dies ist jedoch, wie ein mit sieben untergärigen und einer obergärigen in Saccharose zum Teil 11 Jahre lang aufbewahrten Bierhefen durchgeführter Versuch bewies nicht der Fall. Die Reaktion war im allgemeinen schwach.

Ferner wurde untersucht, ob durch einen Zusatz von schwefelhaltigen organischen und anorganischen Verbindungen zur Würze die Schwefelwasserstoffbildung gesteigert werden kann, und ob etwa solche Hefenarten, welche ohne einen solchen Zusatz zur Würze Schwefelwasserstoff nicht entwickeln, durch die Zusätze zur Bildung dieses Gases gebracht werden können.

Zunächst erhielt eine Würze einen Zusatz von 0,4 g Gips und eine andere einen solchen von 0,17 g Magnesiumsulfat.

Der Zusatz von Gips, der ein sehr hoher war, vermochte die Reaktion im allgemeinen nicht zu verstärken, hatte also auf die Menge des aus der Würze entwickelten Schwefelwasserstoffs unter den gegebenen Bedingungen, welche mit denjenigen bei der Vergärung derselben Würze ohne Gipszusatz gleich waren, keinen wesentlichen Einfluß. Nur Hefe Froberg zeigte eine gewisse Steigerung. Oberhefe 25, welche ohne Zusatz überhaupt keinen Schwefelwasserstoff gebildet hatte, gab nach dem Zusatz sehr schwache Reaktion; auch bei Oberhefe 170 und *Sacch. cerevisiae* Hansen hatte die Reaktion zugenommen. Ebenso wies *Sacch. intermedius* Hansen eine Steigerung auf, während *Sacch. validus* Hansen erst nach dem Zusatz von Gips Schwefelwasserstoff in mäßiger Menge erzeugte. Bei der Würze mit Zusatz von Magnesiumsulfat, bei welcher von vornherein ohne irgendwelchen Zusatz die Reaktion bei den meisten Hefen mäßig bis stark war, hatte diese in einigen Fällen eine gewisse Steigerung erfahren, bei den übrigen blieb sie sich gleich. Bei der wilden Hefe No. 1 (Will), welche überhaupt bei keiner der Würzen das Bleipapier geschwärzt hatte, war eine schwache Reaktion erkennbar.

Eine Vermehrung der Menge der beiden Salze in der Würze hat also innerhalb der bei den Versuchen eingehaltenen Grenzen keinen wesentlichen Einfluß auf die Schwefelwasserstoffbildung.

Einige Versuche waren der Frage des Einflusses der Ernährung, insbesondere durch stickstoffhaltige Substanzen auf die Schwefelwasserstoffbildung gewidmet.

Zunächst wurde in je 100 ccm Würze 1 g Pepton (Witte) gelöst. Die Schwefelwasserstoffbildung war durchschnittlich eine etwas geringere als bei der Würze ohne Zusatz, trotzdem durch das Pepton der Gehalt an schwefelhaltiger Substanz noch etwas erhöht worden war. Bei Oberhefe 170 blieb sie vollständig aus, umgekehrt war aber bei Oberhefe 25 und *Sacch. validus* Hansen nach dem Peptonzusatz eine, wenn auch nur schwache Reaktion bemerkbar.

Aehnliche Beobachtungen hat auch Schander¹⁾ gemacht.

Bei Zusatz von 2 g Asparagin zu 100 ccm Würze war ein Unterschied in der Schwefelwasserstoffreaktion zwischen den Parallelkulturen einer beschränkten Anzahl von Hefen weniger deutlich. Schärfer trat ein solcher bei *Sacch. intermedius* Hansen und bei *Schizosacch. Pombe* hervor.

Ebensowenig hat ein Zusatz von 2 g kalt gelösten Albumins (Eier-

1) a. a. O. p. 108.

eiß) zu 100 ccm Würze bemerkenswerte Unterschiede ergeben. Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, daß hier das Ergebnis von zwei einander entgegenwirkenden Faktoren vorliegen kann. Durch den Albuminzusatz kann, ähnlich wie bei Peptonzusatz, infolge besserer Ernährung einerseits das Schwefelwasserstoffbildungsvermögen der Hefen herabgemindert werden, andererseits wird aber durch das Albumin die Menge des leicht abspaltbaren Schwefels in der Nährlösung erhöht.

Mineralische Nährlösungen sind an und für sich für Hefen wenig geeignete Nährböden. Wenn aber die Schwefelwasserstoffbildung von der mehr oder weniger günstigen Ernährung der Hefezellen abhängt, so dürfte gerade in solchen mineralischen Nährlösungen eine stärkere Entwicklung dieses Gases erwartet werden. Bei Benützung der Hayduckschen Nährlösung mit 0,17 Proz. Magnesiumsulfat war die Reaktion meist eine starke, in einzelnen Fällen sogar eine sehr starke. Hervorzuheben sind von den Hefen, bei welchen die Reaktion stärker als bei den Würzen war, Hefe Froberg, welche in den meisten Fällen in Würze keine oder nur schwache bis mäßige Reaktion gab, ebenso Hefe Logos mit meist mäßiger Reaktion bei Würze und starker in der Hayduckschen Nährlösung, insbesondere aber die Oberhefen 25, 170 und *Sacch. cerevisiae* Hansen mit meist fehlender oder höchstens schwacher Reaktion in Würze, dagegen sehr starker in der Hayduckschen Lösung. *Sacch. ellipsoideus*, *Sacch. turbidans* sowie *Saccharomyces Ludwigii*, welche in gehopfter Würze nur in einem bzw. in keinem Falle Schwefelwasserstoff gebildet hatten, ergaben starke bis mäßige, die letzte von den drei Hefen sogar sehr starke Reaktion.

Die wilde Hefe No. 1 (Will) vermochte in der mineralischen Nährlösung das Gas nicht zu erzeugen, während sie in der Würze mit Zusatz von 0,17 g Magnesiumsulfat auf 100 ccm wenigstens eine schwache Reaktion hervorgerufen hatte.

Die Temperatur hat auf die Intensität der Schwefelwasserstoffbildung keinen Einfluß. Nur zeitlich machte sich, wie zu erwarten, eine Verschiebung insofern bemerkbar, als bei niedriger Temperatur die Entwicklung später eintrat.

Alle unsere Versuchshefen konnten durch Zusatz von pulverisiertem Schwefel zur Würze nach längerer oder kürzerer Zeit zur Entwicklung des Gases gebracht werden. Schon wenige Stunden (8--12) nach Beimpfung der Kulturen war eine geringere oder stärkere Schwefelwasserstoffreaktion an dem vorgelegten Bleipapier sichtbar, obgleich oftmals nur sehr geringe Gärungserscheinungen zu bemerken waren.

Infolge des Schwefelzusatzes verlief die Gärung im allgemeinen viel lebhafter und zeigte sich eine stärkere Schaumbildung in Form großer Blasen.

Bei einigen hautbildenden Formen, wie *Mycoderma Will*, *Willia anomala* (Kirschen) und *Pichia membranaefaciens* tritt oft erst nach zwei bis drei Wochen Schwefelwasserstoffbildung ein. Die Reaktion wird beschleunigt, wenn die Kulturen tüchtig durchgeschüttelt und auf diese Weise die auf der Flüssigkeitsoberfläche entwickelten Zellen mit der Würze und dem Schwefel in innigere Berührung gebracht werden. Selbst bei 4--6 Tage alten Kulturen war unter diesen Bedingungen am folgenden Tag eine Schwefelwasserstoffreaktion sichtbar.

Die Schwefelwasserstoffentwicklung durch *Willia anomala* (Kirschen) bietet insofern ein gewisses Interesse, als Schander bei

einer von ihm geprüften Willia-Art in Peptonlösung mit Schwefelzusatz keine Verfärbung des Bleipapieres erhalten hatte.

Auch einige der von dem einen von uns ¹⁾ früher untersuchten Sproßpilze ohne Sporenbildung wurden in die Untersuchungen mit einbezogen. Da inzwischen umfassendere Versuche durchgeführt sind, soll erst an anderer Stelle über deren Ergebnisse berichtet werden.

Ein Zusatz von Pepton zur Würze mindert, wie gezeigt wurde, die Schwefelwasserstoffbildung herab, bei Oberhefe 170 brachte er sie zum Ausbleiben. Durch einen wiederholten Versuch, in welchem neben dem Pepton gleichzeitig fein pulverisierter Schwefel zur Würze hinzugefügt wurde, erhielten die früheren Ergebnisse im allgemeinen eine Bestätigung.

Je drei von vier Pasteur-Kölbchen mit 100 ccm steriler Bierwürze erhielten folgende Zusätze:

- 1) 1,5 g Pepton Witte + 0,3 g Schwefel,
- 2) 0,3 g Schwefel,
- 3) 1,5 g Pepton.

Das vierte Kölbchen blieb ohne Zusatz.

Das Ergebnis der Beobachtung ist in einer umfangreichen Tabelle zusammengestellt.

Bei der Mehrzahl der Versuchshefen war die Entwicklung von Schwefelwasserstoff aus Würze mit einem Zusatz von pulverisiertem Schwefel, bei gleichzeitiger Gegenwart von Pepton, geringer als aus Würze mit Schwefel allein. Sehr auffällig tritt dieser Unterschied bei *Saccharomyces Ludwigii* hervor. Hier war in der Versuchsreihe 1 (mit Pepton- und Schwefelzusatz) selbst am zweiten Tag noch keine Reaktion eingetreten, während eine stärkere Reaktion in Reihe 2 (mit Schwefel allein) schon eine reichlichere Schwefelwasserstoffentwicklung anzeigte. Aehnlich verhielt sich Oberhefe 170. Eine Ausnahme von den *Saccharomyceten* macht Stamm 2, Karlsberg-Hefe No. 1, Hefe Logos, *Sacch. ellipsoideus*, *Sacch. intermedius* und wilde Hefe No. 2 (Will), bei welchen in beiden Versuchsreihen die Schwefelwasserstoffentwicklung gleich stark war, außerdem, wenn von *Willia anomala* (Kirschen) abgesehen wird, *Sacch. Marxianus* und *Pichia membranaefaciens*.

Eine bestimmte Beziehung zwischen Gärungsintensität, nach den äußeren Gärungserscheinungen beurteilt, und der Schwefelwasserstoffentwicklung besteht auch hier nicht. Im übrigen war auch in den Versuchsreihen 3 und 4 (Würze mit und ohne Peptonzusatz) die Verminderung der Schwefelwasserstoffentwicklung durch den Peptonzusatz mehrfach deutlich.

Die Gegenwart von Schwefel in der Würze ruft nicht nur dann eine stärkere Schwefelwasserstoffbildung hervor, wenn jener fein verteilt ist, sondern auch, wenn er in größeren Stücken in die Würze gelangt. Ungehopfte Würze, welche mit einem im Laboratorium stark geschwefelten Hopfen gekocht worden war, entwickelte kaum mehr Schwefelwasserstoff als die gleiche Würze, welche in gleicher Weise mit dem ungeschwefelten Hopfen gekocht worden war.

1) Will, H., Beiträge zur Kenntnis der Sproßpilze ohne Sporenbildung, welche in Brauereibetrieben und deren Umgebung vorkommen. I. Mitteilung. (Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. 1903. Bd. XXVI. p. 265 und d. Centralbl. II. Abt. 1903. Bd. X. p. 689.)

Das eine steht also fest, daß viele der für den Brauereibetrieb in Betracht kommenden Hefenarten und zwar sowohl Kultur- (Bierhefen) wie wilde Hefen aus gehopfter Bierwürze in verschiedenem Grade Schwefelwasserstoff zu entwickeln vermögen.

Maßgebend hierfür ist neben der Hefenart und Hefenrasse die Zusammensetzung der Würze. Dabei bleibt noch unentschieden, welche schwefelhaltigen Bestandteile der Bierwürze aus der Gruppe der Eiweißkörper und Sulfate vorherrschend als Quelle für die Schwefelwasserstoffbildung dienen. Ein Zusatz von Gips und Magnesiumsulfat hatte unter den gegebenen Bedingungen keinen wesentlichen Einfluß auf die Schwefelwasserstoffbildung. Bei Peptonzusatz blieb innerhalb der Beobachtungszeit die Schwefelwasserstoffbildung eine etwas geringere als bei der gleichen Würze ohne Zusatz. Bei Asparaginzusatz war dagegen der Unterschied weniger deutlich, doch trat ein solcher auch bei einzelnen Hefen stärker hervor. Eine Vermehrung der leicht von der Hefe assimilierbaren stickstoffhaltigen Körper der Würze scheint also der Entbindung von Schwefelwasserstoff entgegenzuwirken.

Dagegen ist in einer mineralischen Nährlösung mit Zucker und Asparagin als Stickstoffquelle die Schwefelwasserstoffbildung meist eine starke, vielfach eine stärkere als in Bierwürze.

Berührung der gärenden Hefe mit Schwefel ruft eine stärkere Schwefelwasserstoffbildung hervor, insbesondere wenn jener fein verteilt ist. Erhöhung der stickstoffhaltigen Würzebestandteile durch Zusatz von Pepton vermindert auch in diesem Falle bei vielen Hefen die Schwefelwasserstoffbildung.

Gärungsintensität und Schwefelwasserstoffbildung gehen nicht parallel.

Nachdruck verboten.

Zur Kenntnis der Bakterienflora des Flaschenbieres. I. *Pseudomonas cerevisiae*.

[Aus dem botanischen Institut der technischen Hochschule in Graz, Vorstand: Prof. Friedrich Reinitzer.]

Von Dr. **Franz Fuhrmann**,

Privatdozent an der Technischen Hochschule zu Graz.

Mit 1 Tafel und 1 Kurve.

Es wurden schon seit längerer Zeit im Institut Flaschenbiere auf ihren Bakteriengehalt geprüft. Diese Untersuchungen verfolgen den Zweck, einmal die Bakterienflora der von den Brauereien selbst abgefüllten Flaschenbiere und solcher von verschiedenen Bierfüllereien festzustellen, die Lebenserscheinungen der daraus isolierten Bakterien näher kennen zu lernen und ihren Einfluß auf das Bier zu studieren. Es waren von vornherein alte Bekannte aus der großen Schar der wasser- und bodenbewohnenden Mikroben zu erwarten, da ja die Reinigung der neuen und ganz besonders der bereits gebrauchten Flaschen durchaus nicht mit der genügenden Gründlichkeit durchgeführt wird, so daß das von der Brauerei sehr keimarm kommende Bier in mit unzähligen Bakterien infizierte Behälter abgefüllt wird. Damit nun diese bakteriologischen Bieruntersuchungen Ergebnisse liefern, die eine befriedigende Antwort auf die oben aufgeworfenen Fragen zulassen, ist die Durch-

arbeitung von sehr vielen Bierproben zu den verschiedensten Zeiten unerlässlich. Erst eine große Reihe von Untersuchungen kann dann Schlußfolgerungen gestatten. Vorerst sollen nur einzelne Mitteilungen die biologischen Eigentümlichkeiten jener dabei isolierten Bakterienarten bringen, die entweder noch gar nicht oder zu ungenügend beschrieben sind, um mit Sicherheit identifiziert werden zu können.

Ueber den nun zu beschreibenden Mikroben konnte ich in der mir zur Verfügung stehenden Literatur keine Angaben finden. Aber noch ein Grund veranlaßt mich, die in Rede stehende Bakterienart erschöpfend zu behandeln. Sie ist nämlich durch eine besonders auffallende Pleomorphie ausgezeichnet, durch die es gelingnn wird, neue Einblicke in den Formenkreis der Bakterien zu eröffnen, wie ich anhangsweise mitteilen werde. Sie gehört zur Gattung „*Pseudomonas*“ des Systems von Migula, weil die einzelnen Stäbchen an einem Zellpole ein Büschel langer Geißelfäden besitzen, deren Zahl 4—6 beträgt. Im hängenden Tropfen bei optimaler Bewegungsfähigkeit gleicht die Bewegung derselben allerdings vollständig derjenigen des Erregers der asiatischen Cholera, doch sobald Fadenbildung eintritt, beobachtet man keine regelmäßigen Schraubenformen und S-Formen, sondern vollständig unregelmäßig gewundene und vielfach geschlängelte, bis 100 μ und darüber in der Länge messende Fäden, die sich unter Windungen weiterschieben und den Anschein des Kriechens unter Biegungen des Körpers erwecken. Bei oberflächlicher Betrachtung kann man diese Bakterienart sehr leicht für eine *Microspira* ansprechen, und ich muß gestehen, daß ich lange unentschlossen war, sie in die Gattung *Pseudomonas* einzuordnen. Entsprechend dem Fundorte nenne ich sie „*Pseudomonas cerevisiae*“.

Wachstum auf festen Nährsubstraten.

Auf der neutralen Nährgelatineplatte (10 Proz. Gelatine, 2 Proz. Pepton sicc. Witte, 1 Proz. Traubenzucker und 0,5 Proz. Chlornatrium in Pferdefleischbrühe) wächst *Pseudomonas cerevisiae* als runde, nicht sehr dicke, in der Mitte etwas kuppenförmig erhabene Auflagerung mit einem schmalen flachen Saum, dessen Kontur leicht gewellt erscheint, wie es die in Fig. 7 der Tafel wiedergegebene Zeichnung zeigt. Nach 24 stündigem Wachstum bei 22° C beträgt der Durchmesser der Kolonien im Mittel $\frac{3}{4}$ mm. Sie besitzen, im durchfallenden Licht betrachtet, eine bräunlichgelbe Eigenfarbe, während sie im auffallenden Licht auf dunklem Grund gesehen gelbweiß erscheinen. Die Kolonien zeigen oberflächlich eine wenig ausgesprochene Aederung und eine mehr feinkörnige Struktur. In der nächsten Umgebung der Auflagerungen entsteht nach einigen Tagen eine seichte, ringförmige Vertiefung; die Gelatine wird also erweicht ohne vollständig verflüssigt zu werden. Eine merkliche Verflüssigung tritt nur dann ein, wenn, wie beispielsweise bei der Originalplatte, eine große Anzahl von Kolonien sich in der Gelatine entwickelt. Aber auch dann ist eine komplette Peptonisierung derselben erst am dritten oder vierten Tag zu beobachten.

Die in der Tiefe der Gelatineplatte sich befindlichen Bakterien wachsen zu kugeligen, keine Erhabenheiten oder Fortsätze bildenden Kolonien von braungelber Eigenfarbe aus, deren Größe in der gleichen Wachstumszeit etwa halb soviel mißt als die der Oberflächenkolonien.

Der von einer 24-stündigen Kolonie hergestellte hängende Tropfen zeigt uns lebhaft bewegliche, kleine, an den Enden abgerundete Stäbchen, die ungefähr zweimal so lang als breit sind. Die Bewegung

gleichet der eines tanzenden Mückenschwarmes. Die Stäbchen beschreiben bogenförmige Bahnen, weshalb sie plötzlich auftauchen und in der Tiefe wieder verschwinden oder, wenn die durch die Bahn gelegte Ebene parallel zum Deckgläschen liegt, zierliche Bogen und Schleifen ausführen. Dabei rotieren die Bakterien um ihre längere Achse. Die Bewegung der etwas länger ausgewachsenen Stäbchen ist langsamer, die Bahnen derselben verlaufen weniger gekrümmt. Längere Kettenverbände sehen wir nicht, höchstens zu zweit vereinte Zellen.

Von jungen, 24-stündigen Gelatinekolonien hergestellte, mit verdünntem Karbolfuchsin gefärbte Ausstrichpräparate zeigen leichtgekrümmte Stäbchen, deren Länge im Mittel 1,5—2 μ , deren Breite 0,6 μ beträgt (vergl. Figur 4 der Tafel). Die Zellen unserer Bakterienart färben sich mit wässrigen Fuchsinlösungen oder verdünnten Karbolfuchsinlösungen besonders leicht und gut. Wässrige Gentianaviolett- und Methylenblaulösungen von der gebräuchlichen Konzentration tingieren sie in der üblichen Färbezeit nur schwach, Eigentümlichkeiten, die wir an Spirillen und Vibrionen zu beobachten gewohnt sind.

Auf die schiefer erstarrte Nährgelatine verimpft bildet unser Bakterium innerhalb 24 Stunden bei 22° C einen gelbweißen, zirka 1 mm breiten, scharf begrenzten und zusammenhängenden Belag von mäßiger Dicke längs des Impfstriches. Die Oberfläche des Rasens ist feuchtglänzend und ohne besondere Zeichnung. Nach weiteren 48 Stunden verbreitert sich die Auflagerung, an deren Oberfläche man eine feine unregelmäßige Aederung wahrnimmt. Nach 6-tägigem Wachstum erreicht der Belag eine Breite von ungefähr 4 mm. Von nun an beginnt der Kulturrasen in die Gelatine einzusinken und in den unteren Partien an der schiefen Ebene herabzugleiten. Es tritt eben eine sehr langsame Peptonisierung des Nährsubstrates ein.

Die Gelatinestichkultur läßt folgende Verhältnisse erkennen: Nach 24 Stunden hat sich bei 22° C eine kleine, scharf begrenzte, gelbweiße Auflagerung von geringer Dicke gebildet. Im ganzen Impfstich ist spärliches Wachstum zu beobachten. Nach 8 Tagen ist die ungefähr 4 mm im Durchmesser messende Kolonie etwas in den Nährboden eingesunken. Die darunter befindliche Gelatine ist stark erweicht und von zahlreichen kleinsten Kolonien durchsetzt und getrübt, wodurch sie sich von der noch nicht erweichten und klaren Umgebung scharf abhebt. Die Form der erweichten Massen gleicht vollends dem Verflüssigungstrichter von Cholerakulturen.

Färbt man die neutrale Nährgelatine mit Lackmus, so findet in den ersten Tagen des Wachstums ein Farbenumschlag ins Rot statt, während später, wenn die Peptonisierung eintritt, die erweichten Massen eine Blaufärbung zeigen. Es wird also zuerst in geringer Menge Säure gebildet und nachher bei der Verflüssigung sehr spärlich Alkali.

Auf Nähragar, hergestellt mit Pferdefleischbrühe und einem Gehalt von 2 Proz. Peptonum sicc. Witte, 1 Proz. Traubenzucker, 0,5 Proz. Chlornatrium und Glycerin und 2 Proz. Agar, ist das Wachstum bei 22° C besser als auf Gelatine. Die Form der angegangenen Kulturrasen wechselt mit dem Wassergehalt dieses Nährsubstrates.

Auf frisch hergestelltem Nähragar, welcher noch Kondenswasser auspreßt und solches in den unteren Partien angesammelt hat, bildet sich längs des Impfstriches nach 24 Stunden eine feuchtglänzende, etwas irisierende, dünne, durchscheinende und schwach weißgelb gefärbte Auflagerung, die einen großen Teil der Agaroberfläche überzieht und nicht

besonders scharf konturiert ist. Das Kondenswasser ist getrübt und besitzt ein feines, grauweißes Häutchen, das sich etwas an den Gefäßwänden erhebt. Nach einigen Tagen verdickt sich der Belag und nimmt eine gelbe Eigenfarbe an. Später diffundiert der gebildete Farbstoff in den Nährboden und verleiht ihm eine zartgelbe Farbe, ohne ihn fluoreszierend zu machen. Der von einer 24 Stunden bei 22° C gehaltenen Agarkultur angefertigte hängende Tropfen enthält nur einzelne oder zu zweit verbundene, kurze, an den Enden leicht abgerundete und mitunter schwach gekrümmte Stäbchen mit sehr lebhafter, bereits genügend charakterisierter Eigenbewegung. Fadenbildungen sind nicht zu beobachten.

Das davon hergestellte Geißelfärbungspräparat zeigt an den einzelnen Stäbchen an einem Pole ein Büschel feinsten, wellig gebogener Geißeln, die des öfteren zu einem dicken, am Ende aufgefasernten Faden verklebt sind. Die Länge der Geißeln ist annähernd 2—3mal so groß als die der Bakterienzellen (vergl. Abbildung 5 der Tafel). Zur Darstellung der Geißeln benützte ich eine etwas vereinfachte Modifikation der Zettnowschen Geißelfärbungsmethode, wie sie ähnlich im Institut für allgemeine Pathologie der hiesigen Universität seit langem in Verwendung ist. Die von jungen Agarkulturen in viel Leitungswasser vorsichtig hergestellte Bakterienaufschwemmung wird auf ausgeglühten Deckgläschen in dünner Schicht mit der vorne hakenförmig umgebogenen Platinnadel in einem Zuge ohne starkes Reiben ausgebreitet und vor Staub unter einer Glasglocke geschützt, rasch getrocknet. Es ist darauf zu achten, daß das für die Aufschwemmung bestimmte Wasser die gleiche Temperatur besitzt wie die verwendete Kultur. Die ange-trockneten Bakterien werden in der Flamme kurz fixiert. Die von Zettnow angegebene gerbsaure Antimonbeize wird auf das doppelte Volumen verdünnt und in einem Uhrschälchen bis zur Klärung erwärmt und durch eine kleine Flamme auf dieser Temperatur annähernd erhalten. Die Deckgläschen kommen nun mit der beschickten Seite nach oben hinein und verbleiben darin durch 3—5 Minuten. Dann werden sie in Leitungswasser gut abgespült, mit destilliertem Wasser kurz nachgewaschen und durch Absaugen mit Filtrierpapier getrocknet. Nun wird das Deckgläschen mit der gewöhnlichen Färbepinzette gefaßt, die beschickte Seite mit der Zettnowschen Aethylaminsilbersulfatlösung bedeckt und einige Male aufgekocht. Nach kurzer Zeit bräunt sich die Silberlösung und ist abzuspülen. Nach gründlichem Waschen in Wasser ist das Präparat zu trocknen und kann nun in Damarxylol eingeschlossen werden. Bei sehr schwer darstellbaren Geißeln kann das Aufkochen mit frischer Silberlösung zweimal vorgenommen werden. Ich kam wohl immer mit einer einmaligen Behandlung aus. Das Photogramm 5 der Tafel stammt von einem derartig behandelten Präparat und zeigt die Geißeln sehr rein und gut erhalten. So tadellos reine und niederschlagfreie Präparate erhält man allerdings nicht wie mit der Originalmethode, doch für diagnostische Zwecke genügen sie vollständig. Ich habe diese Modifikation hier so ausführlich erwähnt, da ich aus Privatmitteilungen erfuhr, daß in manchen Instituten die rasche und sichere Darstellung der Geißeln Schwierigkeiten macht. Diese vereinfachte Zettnowsche Methode bewährte sich selbst bei Anfängern in bakteriologischen Kursen sehr gut und leistet in den Händen Geübter Ausgezeichnetes.

Züchtet man *Pseudomonas cerevisiae* auf frischem Nähragar bei 35° C, so findet nur ein langsames und spärliches Wachstum statt. Das Kondenswasser erscheint nach 24 Stunden kaum getrübt,

trägt keine Kahmhaut und enthält nur geringe Mengen eines weißgelben Niederschlages. Die entstandene sehr kleine Auflagerung ist kaum sichtbar. Der davon hergestellte hängende Tropfen enthält nur schwach bewegliche, etwas verlängerte Stäbchen, die meistens zu kürzeren und längeren Ketten vereinigt sind, an denen eine Gliederung gewöhnlich noch zu erkennen ist. Figur 1 der Tafel zeigt uns das Photogramm eines mit Fuchsin gefärbten Ausstriches einer 24-stündigen bei 33° C gehaltenen Agarkultur. Wesentlich anders ist die Form derjenigen Zellen, die den Niederschlag im Kondenswasser ausmachen. Die Beobachtung desselben im hängenden Tropfen läßt neben wenigen Kurzstäbchen mit mäßiger Eigenbewegung lange, oft über 100 μ messende Fäden erkennen, an denen in größeren Abständen noch eine Gliederung zu sehen ist. Sie sind oft zu kleinen Klümpchen verbunden, wie aus Figur 2 der Tafel zu entnehmen ist. Unter schlangenartigen, unregelmäßigen Windungen und unter Rotation um die längere Zellachse schieben sie sich vorwärts und erwecken den Anschein des Kriechens. Wie mir scheint, findet aber keine wirkliche Verbiegung der Zellwand dabei statt, vielmehr fallen die Biegestellen mit den Verbindungsstellen der einzelnen Glieder zusammen. Aus Figur 2, dem Photogramm eines gefärbten derartigen Ausstriches, ersehen wir noch, daß die langen Fäden an verschiedenen Stellen unbedeutende Auftreibungen zeigen.

Sobald der Nähragar einen geringeren Wassergehalt besaß und das Kondenswasser vertrocknet war, gingen darauf längs des Impfstriches etwas anders aussehende Kulturrasen an, wenn auch die Form der Stäbchen keine Aenderung erfuhr. Bei 22° C bildete sich innerhalb von 24 Stunden ein zarter, ungefähr 1 mm breiter, scharf begrenzter, schwach gelb gefärbter, sehr durchscheinender und feuchtglänzender Belag. Nach 6—7 Tagen ist er 4—5 mm breit und in den mittleren Teilen besonders verdickt. Letztere heben sich von den umliegenden zarten Parteen durch ihre sattere Gelbfärbung und Undurchsichtigkeit gut ab und haben eine fein granulierten, matt wachsartig aussehende Oberfläche.

Werden Agarkulturen mehrere Wochen alt, was natürlich eine entsprechende Austrocknung des Nährsubstrates zur Folge hat, so entstehen im Nährboden dunkelgelbe Kristalle von fein gefiedertem Aussehen. Erwähnen will ich noch, daß sich einige Tage alte Agarkulturen beim Abimpfen als schwach fadenziehend erweisen, sich aber trotzdem in Flüssigkeiten leicht verteilen lassen.

Die Agarstichkultur zeigt im Impfstich ein geringes Wachstum, während sich an der Oberfläche ein in der Mitte verdickter, aus mehreren Etagen bestehender Belag von gelber Farbe bildet, der nach einigen Tagen einen Durchmesser von 4—5 mm aufweist, wenn bei 22° C gezüchtet wurde. Der Nährboden wird auch hier in den oberen Parteen schwach gelb gefärbt.

Auf der Kartoffelscheibe bildet unser Bakterium in den ersten 24 Stunden bei 22° C einen schmalen, ziemlich erhabenen und matten Belag, dessen Ränder vielfach gebuchtet erscheinen und dessen Oberfläche eine zarte Aederung aufweist. Der damit gemachte hängende Tropfen enthält gut bewegliche Kurzstäbchen. Das mit verdünnter Karbolfuchsinlösung gefärbte Ausstrichpräparat zeigt Bacillen, deren Protoplasma nicht homogen tingiert erscheint, sondern ungefärbte kleine Pünktchen enthält, die an erste Anfänge von Sporen erinnern. Die Lage dieser vakuolenartigen Bildungen in der Zelle ist jedoch sehr verschieden, ebenso auch ihre Größe. An vielen Bakterien findet man polar gelegene, ungefärbte

Lücken, die sofort an plasmolytische Erscheinungen erinnern und auch als solche gedeutet werden können. Nach einigen Wochen ist ein großer Teil der Kartoffeloberfläche von einem braunen Ueberzug bedeckt, der aus Kurzstäbchen besteht, die aber keine Sporen enthalten.

Weder auf der Kartoffel noch auf anderen Nährsubstraten konnte ich bei *Pseudomonas cerevisiae* eine Sporenbildung nachweisen, einerlei wie lange und bei welcher Temperatur ich züchtete.

Auf der Scheibe von gekochtem Hühner-Ei findet bei 22° C nur langsames Wachstum statt. Längs des auf den Eiweißrand gesetzten Impfstreiches bildet sich ein schmaler, lichtgelber und feuchtglänzender Belag, ohne daß selbst nach sehr langsamem Wachstum eine augenfällige Veränderung dieses Nährsubstrates zu beobachten wäre. Im hängenden Tropfen untersucht, zeigen die auf Ei gezüchteten Zellen eine lebhaftere Bewegung vom geschilderten Typus. Fadenbildungen fehlen vollständig und wir sehen nur kurze, an den Enden abgerundete Stäbchen.

Wachstum in flüssigen Nährsubstraten.

In neutraler Nährbouillon mit einem Gehalt von 2 Proz. Pepton sicc. Witte, 1 Proz. Traubenzucker und 0,5 Proz. Chlornatrium ist das Wachstum bei Zimmertemperatur ausgezeichnet. Schon nach 24 Stunden bei 22° C ist eine starke allgemeine Trübung des Nährbodens zu beobachten; eine zarte grauweiße Kahlhaut hat sich gebildet, die beim Schütteln in Flocken zerfällt. Den Boden des Kulturgefäßes bedeckt ein in der Flüssigkeit schwer verteilter Niederschlag. Nach 48 Stunden ist die Kahlhaut etwas dicker, erreicht aber selbst nach wochenlangem Wachstum keine beträchtlichere Dicke. Nach dieser Zeit fällt auch eine besonders starke Trübung der oberen, der Luft zugekehrten Flüssigkeitsschichten auf. Vom 4. oder 5. Tage an nimmt das Nährsubstrat eine schwach gelbe Farbe an, während der in großer Menge gebildete Bodensatz rein weiß ist.

Der mit einwöchigen oder älteren Bouillonkulturen versuchte Indol-nachweis fiel negativ aus. Indolbildung findet in Bouillonkulturen nicht statt.

Im hängenden Tropfen untersucht, zeigten die in Bouillon bei 22° C innerhalb von 24 Stunden gewachsenen Bakterien eine lebhaftere Eigenbewegung und keine Neigung zur Bildung von Kettenverbänden. Auch die Kahlhautmassen enthalten nur kurze, nicht zu Fäden verbundene Stäbchen. Das gefärbte Ausstrichpräparat zeigt an den Enden abgerundete, mitunter leicht gekrümmte Stäbchen mit homogener Färbung. Ihre Länge beträgt ungefähr 1,5—2 μ , ihre Breite 0,6 μ .

Werden Bouillonkulturen bei 35° C gehalten, so beobachtet man nach 24 Stunden eine allgemeine, geringe Trübung nebst einem geringen Bodensatz. Eine sehr dünne Kahlhaut wird erst viel später gebildet. Die Stäbchen sind länger, schlechter beweglich und zeigen eine ausgesprochene Neigung zur Kettenbildung.

In Peptonwasser mit 1,5 Proz. Pepton- und 0,5 Proz. Kochsalzgehalt ist das Wachstum schlechter als auf Bouillon. Nach 24 Stunden bei 22° C überzieht die nur spärlich allgemein getrübe Flüssigkeit eine sehr zarte, eben wahrnehmbare Kahlhaut. Ein Bodensatz ist noch nicht gebildet. Im hängenden Tropfen gewahrt man kurze, an den Enden abgerundete, gut bewegliche Stäbchen, deren Kürze ganz auffallend ist.

Fadenbildungen fehlen vollständig. Das mit verdünntem Karbolfuchsin gefärbte Ausstrichpräparat, wovon Figur 3 ein Photogramm wiedergibt, enthält sehr kurze, mitunter wie Kokken aussehende Bacillen, deren Enden abgerundet sind. Sie zeigen eine homogene Tinktion. Bei längerer Zucht auf Peptonwasser nimmt die allgemeine Trübung beträchtlich zu, die Kahlhaut wird dicker und es bildet sich nach einigen Tagen ein mäßiger Bodensatz.

Jüngere und auch mehrere Wochen alte Peptonwasserkulturen unseres Bakteriums geben weder die Nitrosoindolreaktion auf Zusatz von Schwefelsäure, noch kann in ihnen eine Indolbildung nachgewiesen werden.

Bei 35° C ist das Wachstum auf Peptonwasser viel geringer und langsamer und es entstehen dabei bedeutend längere Formen. Eine sehr dünne Kahlhaut wird erst nach einigen Tagen ausgebildet.

Wird *Pseudomonas cerevisiae* auf steriler Milch gezüchtet, so findet sowohl bei Zimmertemperatur als auch bei 35° C nur eine sehr langsame Vermehrung der Zellen statt. Erst nach 10–14 Tagen wird das Kasein gefällt. Eine Farbenänderung der Milch ist nicht zu beobachten. Das gefällte Kasein wird nicht wieder in nennenswerter Menge gelöst.

In dem mit Traubenzuckerbouillon gefüllten Gärungskölbchen findet in dem offenen Schenkel gutes Wachstum statt.

Allmählich greift die Trübung auch auf einen Teil des geschlossenen Schenkels über, dehnt sich aber auch nach langer Zeit nicht über den ganzen Inhalt aus. Eine Gasbildung konnte nicht festgestellt werden.

Unsere Bakterienart gedeiht am besten unter Zutritt der Luft, bedarf aber des Luftsauerstoffs zu seinem Leben nicht unbedingt, wie der einfache Versuch der Zucht von *Pseudomonas cerevisiae* auf Agar oder Bouillon in der Buchnerschen Röhre zeigt. Es findet hier bei 22° C innerhalb von 24 Stunden gutes Wachstum statt, wenn es auch geringer ist als unter Luftzutritt. Auf Agar bildet sich längs des Impfstreiches ein fast ungefärbter Belag mit feuchtglänzender Oberfläche. Zu einer Farbstoffbildung kommt es überhaupt nicht, was bei der anaëroben Zucht fakultativer Anaërobionten eine gewöhnliche Erscheinung ist, wie zahlreiche Untersuchungen lehren. Im hängenden Tropfen beobachtet, zeigen die Stäbchen lebhaftere Eigenbewegung. Zwischen der Form und Größe der aërob oder anaërob gezüchteten Bakterien bestehen keine Unterschiede. Wird unser Bakterium in Nährbouillon bei 22° C anaërob gezüchtet, so bemerkt man nach 24 Stunden eine schwache allgemeine Trübung und einen sehr geringen Bodensatz. Nach einigen Tagen wird die Trübung beträchtlicher und der Bodensatz nimmt zu. Eine Kahlhaut wird auch nach langer Zeit nicht gebildet. Die gewachsenen Stäbchen sind gut beweglich und gleichen vollständig den aërob gezüchteten. *Pseudomonas cerevisiae* ist also ein fakultativer Anaërobiont.

Das Wachstum bei verschiedenen Temperaturen.

Ueber diese Verhältnisse konnte ich mich leider nicht mit der wünschenswerten Genauigkeit orientieren, da darüber nur gleichzeitig angelegte Parallelkulturen, die bei den verschiedenen Temperaturen gezüchtet werden, Aufschluß geben können. Dazu gehört eine ganze Reihe sehr gut regulierter Thermostaten, über die ich aber nicht verfüge. Ich

machte daher nur einige grobe Versuche, deren Resultate ich kurz wiedergebe. Das Temperaturoptimum für unsere Bakterienart liegt um 22° C. Bei dieser Temperatur findet das rascheste Wachstum statt, es wird am schnellsten eine Kahlhaut gebildet und es tritt am ehesten eine merkliche Farbstoffbildung ein. Auch sind bei dieser und wenig darunter liegenden Temperaturen die Bakterien am besten beweglich. Die obere Wachstums- oder Vermehrungsgrenze liegt um 36° C. Doch vermag selbst die Einwirkung einer Temperatur von 40° C durch 24 Stunden Kulturen unseres Bakteriums nicht zu sterilisieren. Die unterste Wachstumsgrenze liegt in der Nähe von 0° , vielleicht sogar etwas darunter. Bei 4° C wächst eine Agarkultur innerhalb von 24 Stunden noch gut aus und die gebildeten Kurzstäbchen sind lebhaft beweglich. Fadenbildungen treten bei der Zucht in niederen Temperaturen auf den üblichen Nährböden überhaupt nicht auf. Aus dem Mitgeteilten geht ohne weiteres hervor, daß *Pseudomonas cerevisiae* in Bezug auf eine bestimmte Temperatur gar nicht wählerisch ist und sich sowohl im Eisschrank als auch bei einer nur um wenig niedrigeren Temperatur, als sie der Körper der Warmblüter aufweist, zu vermehren im stande ist.

Um nun die Einwirkung höherer Temperaturen auf die Vermehrungsfähigkeit unserer Bakterien zu untersuchen, brachte ich 24-stündige beim Temperatureptimum gezüchtete Agarkulturen auf eine frische Agarfläche und setzte sie verschieden lange einer Temperatur von 60° C aus. Diese Versuche lehrten, daß *Pseudomonas cerevisiae* über 1 Stunde die Einwirkung von 60° ertrug, ohne sterilisiert zu werden. Erst diejenigen Röhrchen, die mindestens $1\frac{1}{2}$ Stunde in dieser Temperatur verblieben, erwiesen sich als steril. Die Einwirkung dieser hohen Temperatur durch kürzere Zeit bewirkte nur eine bedeutende Verlangsamung des Auswachsens.

In sterilisiertem Bier von 4—5 Volumprozenten Alkoholgehalt eingebracht, ist die Widerstandsfähigkeit von *Pseudomonas cerevisiae* gegen die Temperatur von 60° C bedeutend verringert, denn schon nach einer halben Stunde erwiesen sich die Proben als steril. Daraus ergibt sich, daß es sehr leicht gelingt, durch Pasteurisieren des Flaschenbieres diese Bakterienart zu unterdrücken.

Wachstum auf verschieden alkalischer Gelatine und Nährbouillon.

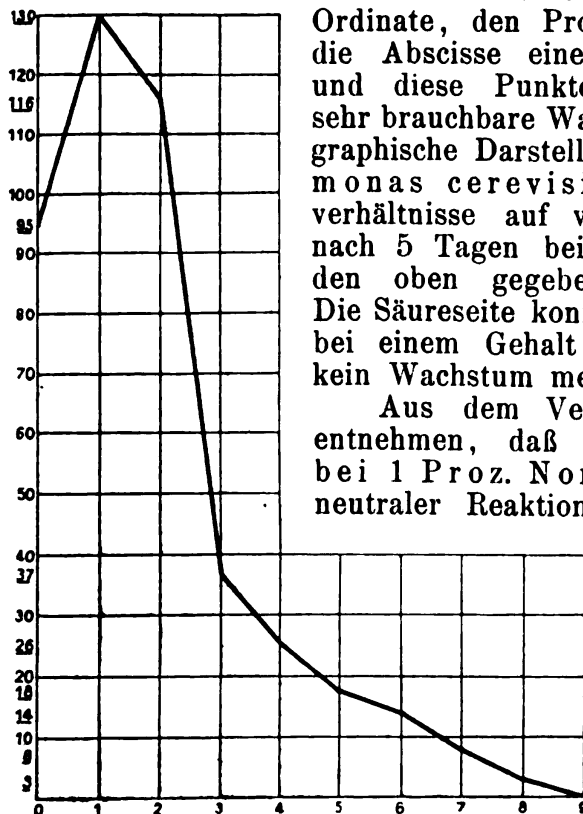
Die meisten Bakterien bevorzugen im allgemeinen einen schwach alkalischen Nährboden, während wieder die einzelnen Species oder Gruppen von Mikroben ein verschiedenes Alkaleszenzoptimum besitzen. Gerade diese Eigenschaften scheinen für die Bakterienarten ziemlich konstant zu sein und sind daher für die Charakterisierung und Diagnostik derselben von Bedeutung. Dies gilt natürlich nur dann, wenn bei allen Untersuchungen eine einheitliche Technik angewendet wird. Für die Untersuchung der aus Flaschenbieren reingezüchteten Bakterien auf ihr Wachstum bei verschieden saurer und alkalischer Nährgelatine und Bouillon arbeitete ich nach folgender Methode: Es wurde zuerst eine Stammbouillon hergestellt, indem 1 kg Pferdefleisch mit 1 l Wasser durch 24 Stunden in der Kälte digeriert und noch 1 Stunde im Dampftopf gekocht wurde. Die erhaltene Fleischbrühe wurde genau auf 1 l aufgefüllt und mit 40 g Peptonum sicc. Witte, 20 g Traubenzucker und

10 g Kochsalz versetzt. Von dieser Stammbouillon stellte ich mir durch Eintragen von 100 g Gelatine in 500 ccm Bouillon eine Stammnährgelatine her. Sie enthielt demnach 20 Proz. Gelatine. Diese doppelt konzentrierten Stammnährböden wurden nun genau neutralisiert, geklärt und durch Zusatz von Wasser und Normalsäure oder Alkalilösung auf das doppelte Volumen verdünnt. Es ist klar, daß die resultierenden Nährsubstrate den vollständig gleichen Gehalt an Pepton, Traubenzucker und Kochsalz, resp. Gelatine hatten, nur der Alkali- oder Säuregehalt war verschieden. Als Säure verwendete ich immer Normalelessigsäure, als Alkali Normalnatronlauge. Die benützten Normalflüssigkeiten wurden jedesmal mit dem Zeiss'schen Eintauchrefraktometer kontrolliert, wozu dieses Instrument auf das beste zu empfehlen ist. Ich arbeitete immer mit folgenden Alkaleszenz- und Säuregraden: 1, 2, 3—8 Proz. Normalalkaligehalt und 1—3 Normalsäuregehalt. Jedes Proberöhrchen enthielt genau 10 ccm des betreffenden Nährsubstrates und es wurde auch darauf geachtet, daß die Röhrchen einer Versuchsreihe eine möglichst gleiche innere Lichte besaßen.

Da *Pseudomonas cerevisiae* Gelatine nur sehr langsam verflüssigt, legte ich Strichkulturen auf schief erstarrter verschiedener reagierender Gelatine an. Es ist allerdings sehr mißlich, daß man in diesen Fällen kein Maß für feinere Unterschiede in der Wachstumsintensität besitzt. Es bleibt nichts anderes übrig, als die Breite der in einer bestimmten Zeit angegangenen Kulturrasen in einer bestimmten Entfernung vom Beginn des Impfstriches zu messen. Größere Unterschiede erkennt man leicht, doch ist die Bestimmung kleiner Differenzen unmöglich. Ich unterließ es daher, die bei den Messungen erhaltenen Resultate graphisch darzustellen und begnüge mich mit folgenden Angaben. Das Alkaleszenzoptimum bei Nährgelatine liegt um 1 Proz. Normal; ganz allmählich nimmt dann das Wachstum bis ca. 5 Proz. Normalalkaligehalt ab, ist aber bei diesem Gehalt an Alkali noch immer mindestens doppelt so gut als bei Neutral. Dann findet eine rasche Abnahme desselben statt und ist bei 8 Proz. Normalalkali gleich 0. Ein Gehalt von 1 Proz. Normalelessigsäure hindert jedes Wachstum. Unsere Bakterienart verträgt nur wenige Zehntelprozent Normalelessigsäure. So sind die Befunde nach 5 Tagen bei 22° C. Wegen der nun eintretenden Erweichung der Gelatine ist eine längere Beobachtungsdauer unmöglich.

Einen weit besseren Einblick in die Wachstumsverhältnisse bei verschiedenem Alkali- und Säuregehalt gestattet die Zucht auf verschieden reagierender Bouillon, die analog der früher beschriebenen Nährgelatine hergestellt wurde. Zu diesen Versuchen wurden 3 Proberöhrchen mit je 10 ccm Nährbouillon mit einem Gehalt von 1,2 und 3 Proz. Normalelessigsäure, 10 Röhrchen mit je 10 ccm Bouillon mit 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 und 10 Proz. Normal-NaOH-Gehalt und 1 Eprovette mit 10 ccm neutraler Bouillon verwendet. Sie wurden mit je einer Oese voll der in sterilem Leitungswasser hergestellten Aufschwemmung von 24-stündiger Agarkultur beimpft. Um ein annäherndes Maß für die Menge der in der Aufschwemmung enthaltenen Bakterien zu haben und auch in Zukunft für die Untersuchung anderer Bakterien wieder eine eben so starke Aufschwemmung zu haben, stellte ich diese in der Weise her, daß immer die gleiche, kleine Oese zum Abheben des Kulturrasens benützt und die diese Oese füllende Menge in 10 ccm Wasser sehr gut verteilt wurde. So wird wenigstens von einer annähernd gleichen Bakterienaufschwemmung ausgegangen und in jedes Röhrchen eine möglichst

gleiche Anzahl von Mikroben verimpft. Ich verhehle mir durchaus nicht, daß diese Methode noch eine Reihe von Mängeln besitzt und die dabei erhaltenen Werte keineswegs absolut richtig sind, doch zur Vergleichung von Bakterienarten untereinander kann ihr ein großer Wert nicht abgesprochen werden. Um nun die Wachstumsintensität oder Schnelligkeit möglichst genau beurteilen zu können, wurden nach 5 Tagen von den Bouillonkulturen Gelatineplatten gegossen und die darauf gewachsenen Kolonien nach 48 Stunden gezählt. Um wieder möglichst genau zu arbeiten, wurden die Bouillonkulturen vor der Abimpfung, die wieder mit einer kleinen Oese vorgenommen wurde, sehr gut durchgeschüttelt, so daß entstandene Bodensätze und Kahmhäute in der Flüssigkeit vollständig verteilt waren. Dann entnahm ich geringe Mengen mit einer kleinen Oese und infizierte damit die Gelatine und goß nach tüchtiger Verteilung der eingesäten Bakterien die Platten. Da die Platten oft viele Tausende von Kolonien aufwiesen, so wurde nicht die absolute Kolonieenzahl bestimmt, sondern unter dem Mikroskop mit einem schwachen Objektiv unter Zuhilfenahme des Netzmikrometers eine größere Anzahl von Quadraten ausgezählt und daraus eine Mittelzahl für ein vom Netzmikrometer bedeckte Fläche gerechnet. Diese Zahlen wurden nun für alle Platten bestimmt. Selbstverständlich ist die Voraussetzung gemacht, daß alle Kulturschalen den gleichen Durchmesser haben und immer die gleiche Menge Nährgelatine ausgegossen wurde. Diese Bedingungen erfüllte ich bei meinen Untersuchungen. Die erhaltenen Zahlen untereinander verglichen, gestatten uns dann einen Einblick in die Wachstumsverhältnisse der einzelnen Kulturen. Je mehr Kolonien auf der immer gleichbleibenden Fläche gezählt wurden, eine um so raschere Vermehrung muß stattgefunden haben. Wenn man



nun die erhaltenen Zahlen als Millimeter auf die Ordinate, den Prozentgehalt als Centimeter auf die Abscisse eines Koordinatensystems aufträgt und diese Punkte verbindet, erhält man eine sehr brauchbare Wachstumskurve. Die begedruckte graphische Darstellung bezieht sich auf *Pseudomonas cerevisiae* und stellt die Wachstumsverhältnisse auf verschieden alkalischer Bouillon nach 5 Tagen bei 22° C dar. Sie wurde nach den oben gegebenen Grundsätzen konstruiert. Die Säureseite konnte füglich wegbleiben, da schon bei einem Gehalt von 1 Proz. Normal $C_2H_4O_2$ kein Wachstum mehr statthat.

Aus dem Verlauf der Kurve ist nun zu entnehmen, daß das Alkaleszenzoptimum bei 1 Proz. Normalalkali liegt. Auch bei neutraler Reaktion und bei einem Gehalt von 2 Proz. N-A. findet noch sehr gutes Wachstum statt; dann nimmt das Wachstum rasch ab und ist bei 3 Proz. schon gering. Von da an nimmt das Wachstum langsam ab und ist bei einem Gehalt von 9 Proz. N-A. gleich 0.

Wachstum auf anorganischen Nährlösungen mit besonderen N- und C-Quellen.

Für die Bestimmung und Wiedererkennung bereits beschriebener Bakterienarten ist die Kenntnis der Wachstumseigentümlichkeiten auf mineralischen Nährlösungen unter Darreichung besonderer Stickstoff- und Kohlenstoffquellen von großem Wert, weil dabei nur jederzeit rein darstellbare chemische Verbindungen Anwendung finden und deshalb die gewonnenen Resultate ohne weiteres vergleichbar sind.

Zu meinen Versuchen verwendete ich als mineralische Nährlösung die von A. Mayer im Praktikum der botanischen Bakterienkunde (1903) auf S. 15 angegebene „stickstofffreie, mineralische Nährlösung II (M-Nährlösung)“, bestehend aus:

1 g KH_2PO_4 , 0,1 g CaCl_2 , 0,3 g $\text{MgSO}_4 + 7 \text{H}_2\text{O}$,
0,1 g NaCl , 0,01 g Fe_2Cl_6 in 1000 ccm Wasser.

Diese Stammlösung wurde nun mit verschiedenen N- und C-Quellen versetzt. Als N-Quellen dienten Asparagin, Kaliumnitrat, Chlorammonium und endlich Peptonum siccum Witte, ein Präparat von minder konstanter Zusammensetzung. Von besonderen C-Quellen wurde zugesetzt: Traubenzucker, Rohrzucker und Glycerin.

(Siehe Tabelle p. 320.)

Aus der folgenden Zusammenstellung ist ersichtlich, daß unser Bakterium auf der mineralischen Nährlösung bei Darreichung des Amidokörpers Asparagin ohne besondere Kohlenstoffquelle eben wächst, aber keine Kahmhaut zu bilden vermag. Vorzügliches Wachstum mit Deckenbildung tritt erst bei gleichzeitiger Zugabe von Traubenzucker als besondere C-Quelle ein. Wird aber an Stelle des Traubenzuckers Rohrzucker gegeben, ist das Wachstum geringer. Dienen nun einfachere Verbindungen als N-Quellen, dann findet gerade bei Zugabe von Rohrzucker besseres Wachstum statt. *Pseudomonas cerevisiae* begnügt sich, wie aus der Zusammenstellung hervorgeht, mit sehr einfach zusammengesetzten Stickstoffquellen, wie Kaliumnitrat und Chlorammon. Aus No. IV ist ersichtlich, daß mehrwertige Alkohole, wie Glycerin, eine sehr mindere C-Quelle sind.

Versetzt man die mineralische Nährlösung mit 1 Proz. Pepton, so erhält man einen Nährboden, auf dem unsere Bakterienart nicht sonderlich gedeiht. Vermehrt man aber den Kochsalzgehalt auf 0,5 Proz., dann findet sehr gutes Wachstum statt.

Bei den Versuchen V und VI der Zusammenstellung findet eine starke Nitritbildung statt. Schon nach 3-tägigem Wachstum kann man mit Jodstärke oder Indigolösungen Nitrit nachweisen.

Auf den angegebenen Nährlösungen bei 22° C werden bei unserem Bakterium nur sehr kurze und an den Enden stark gerundete Formen gebildet. Die Stäbchen sind sehr gut eigenbeweglich und zeigen keine Neigung zur Kettenbildung. Eine Ausnahme machen die auf Chlorammoniumlösung angegangenen Bakterien. Sie sind bedeutend größer und in langen Kettenverbänden vereinigt. Außerdem zeigen sie kolbige Auftreibungen und Anschwellungen, worauf im folgenden noch näher hingewiesen werden wird.

Es wurden noch eine Reihe von Versuchen der Zucht auf anorganischen Nährlösungen unter Zugabe von verschiedenen N-Quellen, verschiedenen Polysacchariden und einwertigen und mehrwertigen Alkoholen als C-Quellen gemacht, deren Wiedergabe aber in einer späteren

Tabelle I.

| No. | Minera- | Aspara- | Kalium- | Chlor- | Trauben- | Rohr- | Wachstumserschei- | Wachstumserschei- |
|------|----------|---------|---------|--------|----------|--------|---|--|
| | logische | gin | nitrat | ammon. | zucker | zucker | | |
| | Nährsg. | | | | | | bei 22° C | bei 22° C |
| | ccm | g | g | g | g | g | | |
| I | 100 | 1 | — | — | — | — | Spur allgemeine Trübung, keine Kahlhaut und kein Bodensatz | Keine Kahlhaut, schwache allgemeine Trübung mit sehr geringem Bodensatz |
| II | 100 | 1 | — | — | 1,5 | — | Allgemeine Trübung, ohne Bodensatz. Dünne, ziemlich feste, grauweiße Kahlhaut | Sehr gutes Wachstum, starke Trübung, gut entwickelte Kahlhaut und bedeutender Bodensatz |
| III | 100 | 1 | — | — | — | 0,75 | Allgemeine Trübung geringer als bei No. II. In der Flüssigkeit kleine Krümel, Spur Bodensatz, dünne, zarte Kahlhaut | Weniger Wachstum, wie bei II, geringere Trübung und dünnere Kahlhaut; mäßiger Bodensatz |
| IV | 100 | — | 1 | — | — | — | — | Spur Trübung, keine Kahlhaut und kein Bodensatz |
| V | 100 | — | 1 | — | — | 0,75 | Spur Trübung mit Krümeln in der Flüssigkeit. Kein Bodensatz und keine Kahlhaut | Schwache, allgemeine Trübung. Geringer krümeliger Bodensatz, keine Kahlhaut |
| VI | 100 | — | 1 | — | 1,5 | — | — | Spur Wachstum, keine sichtbare Kahlhaut, geringer Bodensatz, geringe Trübung |
| VII | 100 | — | — | 1 | — | 0,75 | Allgemeine, geringe Trübung ohne Bodensatz und Kahlhaut | Allgemeine Trübung, geringer Bodensatz, besseres Wachstum als in No. VIII |
| VIII | 100 | — | — | 1 | 1,5 | — | Spur Trübung, ohne Kahlhaut u. Bodensatz | Allgemeine Trübung, geringer krümeliger Bodensatz, der fest zusammengebacken ist, keine Kahlhaut. Ueberhaupt geringes Wachstum |

Mitteilung erfolgen soll, da es sich um Vergleichungsuntersuchungen des Wachstums sämtlicher, bisher aus Flaschenbieren isolierten Bakterien handelt.

Wachstum auf Bouillon mit verschiedenem Alkoholgehalt.

Je 10 ccm Nährbouillon wurden mit Aethylalkohol versetzt, daß Proben mit 1—8 Volumprozenten Alkohol resultierten. Diese alkoholisierten Nährlösungen wurden nun mit jungen Bakterienmaterial infiziert und bei Zimmertemperatur gehalten. Es trat bei einem Gehalt von 1—5 Proz. Alkohol innerhalb 48 Stunden Wachstum ein. In den Röhren mit 1—4 Prozent bildete sich auch eine Kahlhaut, die bei 5 Proz. fehlte. Der zugefügte Alkohol wurde nach 4—5 Tagen

fast vollständig zersetzt und war nach dieser Zeit nur mehr in Spuren nachweisbar. Es bildeten sich sehr übelriechende Zersetzungsprodukte, deren Geruch an faulen Käse und verdorbene Preßhefe erinnert.

Auf sterilisiertes Bier übertragen, dem der beim Dämpfen verlorene Alkohol wieder ersetzt wurde, gedeiht unsere Bakterienart sehr schlecht. Es findet nur eine langsame Vermehrung statt, wobei eine Trübung zu bemerken ist, ohne daß eine Kahlhaut gebildet wird. Die als Nährboden verwendeten Biere hatten einen Gehalt von 4 und 5 Volumprozenten Alkohol. Ich muß allerdings erwähnen, daß bei der Sterilisation des Bieres im strömenden Dampf Eiweißkörper ausfallen und daß vielleicht gerade damit das verminderte Wachstum zu erklären ist. Außerdem muß der Gehalt an Hopfen ebenfalls berücksichtigt werden. Daß aber auch dann, wenn nur geringes Wachstum mit Trübung auftritt, das betreffende Bier für den Genuß unappetitlich wird, ist wohl selbstverständlich. Auf diese Verhältnisse soll noch besonders eingegangen werden, wenn die in größerem Maße geplanten Untersuchungen mit pasteurisiertem Bier fertiggestellt sind.

Wuchsformen auf Chlorammoniumnährlösung. Vorläufig mitgeteilt.

Wie ich an einzelnen Stellen dieser Abhandlung andeutete, ändert unser Bakterium bei der Zucht auf gewissen Nährsubstraten oder in bestimmten Temperaturen, besonders an der oberen Temperaturgrenze, wo eben noch Wachstum statthaben kann, seine Form ganz wesentlich. Die dabei auftretenden färberischen Erscheinungen im Zelleib gestatten auch den Schluß, daß es sich in allen diesen Fällen um ganz andersartige Verteilungen der Inhaltkörper handelt, als wenn wir in optimalen Temperaturen oder auf Nährsubstraten mit optimalem Nährwert züchten. Gerade der Umstand, daß *Pseudomonas cerevisiae* auch mit sehr einfachen Stickstoffverbindungen wie Chlorammonium bei gleichzeitiger Darreichung von Traubenzucker oder Rohrzucker vorlieb nimmt, und darauf ungefähr so gut wächst, wie auf hochzusammengesetzten Eiweißnährböden bei höherer Temperatur, macht es verhältnismäßig leicht, seine Formenveränderungen, wie sie durch ungünstige oder minder gute Ernährungsbedingungen zu stande kommen, bis ins Detail zu verfolgen. Meine diesbezüglichen Untersuchungen sind noch keineswegs abgeschlossen und werden in einer späteren Publikation eingehend behandelt werden. Vorderhand will ich nur einige Beobachtungen mitteilen, die ich bei der Zucht auf mineralischer Nährlösung mit 1 Proz. Chlorammonium und 0,75 Proz. Rohrzuckerzusatz machte. Als Aussaatmaterial diente eine junge, bei Zimmertemperatur gewachsene Agarkultur, von der eine kleine Menge in die soeben angegebene Nährlösung verimpft wurde. Die nach 48-stündigem Wachstum entnommenen Proben der dünnen, zarten Kahlhaut in Wasser verrührt, lassen nun folgende Verhältnisse erkennen: Wir finden bei der Untersuchung im hängenden Tropfen fast ausschließlich hypertrophe Formen. Meistens hängen zwei Stäbchen zusammen, berühren sich aber nicht mit ihrer ganzen Basis, sondern erscheinen auseinander gezogen, an den Enden zugespitzt und durch eine feine Brücke verbunden. Meistens zeigt das eine Langstäbchen am freien Ende eine kolbige Anschwellung mit einer mehr oder weniger großen Ausweitung. Solche Stäbchen besitzen dann die Form einer regelmäßig gestalteten Birne. Im ungefärbten Zustand erscheint der Inhalt homogen und unge-

fähr so lichtbrechend, wie der eines gewöhnlichen Kurzstäbchens. Im gleichen Präparat gewahren wir auch Kettenverbände, deren Glieder (6—10) noch die Form der Kurzstäbchen annähernd beibehalten haben und nur sehr wenig an den Enden verschmälert erscheinen. Zwischen diesen Gliedern oder an einem etwas verlängerten Gliede schiebt sich seitlich eine Art Blase vor, gefüllt mit einem mäßig stark lichtbrechenden Inhalt. Diese Hervortreibung vergrößert sich mehr und mehr und wird endlich abgeschnürt. Die Größe dieser abgeschnürten Kugel ist etwas variabel und schwankt zwischen 2 und 3 μ . Manchmal gewahrt man an mehreren Stäbchen kleine Würzchen, die sich dann zu solchen Kugeln ausbilden. Auch in der Flüssigkeit sehen wir in jedem Gesichtsfelde solche Kugeln bewegungslos herumliegen. Außer den genannten Bildungen finden wir noch wenige, schwach eigenbewegliche Kurzstäbchen. Im gefärbten Ausstrichpräparat (tingiert mit Löfflers Methylenblau oder mit verdünntem Karbolfuchsin) erscheinen diese Bildungen nun eigenartig different gefärbt. Die kleineren kolbigen Endanschwellungen sind homogen dunkel gefärbt. Die größeren Auftreibungen dagegen lassen in ihrem Inhalt verschieden gefärbte Teile erkennen. Eine mehr blaß tingierte Grundsubstanz umgibt eine oder zwei dunkel gefärbte Kugeln, die meistens eine wandständige Lage besitzen. Die kugelförmigen Ausbuchtungen an den Zellen zeigen ähnliche Erscheinungen, solange sie noch klein sind. Die großen, in der Flüssigkeit frei schwebenden kugeligen Gebilde färben sich nur sehr wenig in einem blaßblauen oder mit Fuchsin blaßroten Farbenton. Bringen wir nun etwas von der Kahlhaut, die wir soeben untersuchten, in frische Chlorammoniumnährlösung oder noch besser in Peptonwasser (2 Proz. mit 0,5 Proz. ClNa in H_2O), so können wir nach zwölf Stunden folgende Beobachtungen machen: An den birnförmigen Auftreibungen, resp. an dessen verschmälertem Ende, sehen wir kurze, fast würfelförmig aussehende Kurzstäbchen von der für Peptonwasser typischen Größe in einem mehr oder weniger langen Kettenverband hängen. Sie werden gleichsam aus dem Kolben herausgetrieben. Der Inhalt der Auftreibungen hat sein homogenes Aussehen verloren und zeigt eine deutliche Struktur. Er besteht aus kleinen Kügelchen mit ziemlich starkem Lichtbrechungsvermögen, umgeben von einer weniger lichtbrechenden strukturlosen Masse. Wie ich bisher beobachtete, werden die Kurzstäbchen in diesen Kolben formiert oder zumindest präformiert und treten dann, noch zusammenhängend, an einer Stelle aus. Im ersten Augenblick erinnert diese Erscheinung an die Rückbildung der Kurzstäbchen von Essigbakterien aus infolge Erwärmung hypertrophisch gewordener Formen derselben. Bei näherer Betrachtung scheint dieser Vorgang doch wesentlich anders zu sein, da es sich im letzteren Falle augenscheinlich um eine Segmentierung handelt und nicht um eine Bildung der Kurzstäbchen in den Auftreibungen.

Die als Kugeln beschriebenen Bildungen treffen wir in diesem hängenden Tropfen wieder, doch in verringerter Anzahl. Ihr Inhalt erscheint entweder homogen oder ist in eine Anzahl von rundlichen, ziemlich stark lichtbrechenden Kügelchen zerteilt, deren Größe gering aber untereinander gleich ist. Ihre Anzahl ist verschieden. Einmal zählte ich fünf, in anderen Fällen waren etwas mehr oder weniger vorhanden. Die Größe dieser Inhaltkörper stimmt mit derjenigen von frei in der Flüssigkeit herumtanzenden kleinsten Gebilden vollständig überein. Hie und da gewahrt man zerrissene oder gesprengte Hüllen solcher Kugeln. Die in der Flüssigkeit sich herumtummelnden Kurzstäbchen können ent-

sprechend ihrer Größe in zwei Gruppen eingeteilt werden, nämlich in solche, die aus den kolbigen Endanschwellungen hervorgehen und bedeutend größer sind und in solche, die davon nur ungefähr ein Drittel messen und mit den in den Kügelchen entstehenden oder eingeschlossenen Gebilden in Form und Größe übereinstimmen.

Auf eine Erscheinung möchte ich noch ganz besonders hinweisen. Wir finden sowohl in gefärbten Ausstrichpräparaten als im hängenden Tropfen sehr häufig die früher erwähnten Doppelstäbchen mit einer endständigen Anschwellung in unmittelbarer Verbindung mit einem zweiten am Ende kolbig aufgetriebenen Stäbchen. Beide Gebilde berühren sich seitlich mit den Anschwellungen und diese verbindet ein färbbarer Faden. In allen Fällen ist die Auftreibung des Einzelstäbchens kleiner als die des Doppelstäbchens. Diese ganze Erscheinung erinnert sehr lebhaft an Bilder, wie wir sie bei der Zygosporienbildung zu sehen gewohnt sind. Ob es sich in der Tat um etwas ähnliches handelt, vermag ich noch nicht mit Sicherheit zu entscheiden und will einstweilen diese Tatsache einfach festgestellt haben.

Ebenso kann ich über die zeitliche Abfolge der den mitgeteilten Befunden entsprechenden Vorgänge keine exakte Angabe machen. Es sind auch in der Literatur, die über den feineren Bau der Bakterienzelle vorliegt, bereits Fragen erörtert und Befunde angegeben, auf die ich mich in dieser vorläufigen Mitteilung nicht näher einlassen will. Meine wenigen Beobachtungen ergeben aber, daß es sich in allen diesen Fällen, sowohl bei der Bildung kolbiger Endauftreibungen, als auch bei der Entstehung der seitlich auftretenden blasigen Kugeln nicht um Absterbeerscheinungen handeln kann, nachdem aus den genannten Bildungen wieder bewegliche Zellen entstehen. Ebenso kann ich in diesen Erscheinungen keine Plasmoptyse im Sinne A. Fischers erblicken. Auch stimmen meine bisherigen Befunde mit den durch A. Mayer bekannt gewordenen Erscheinungen an den sporenbildendem *Bacillus cylindricus* nicht überein, was weniger wundert, da Mayer an einer ganz anderen Bakterienart seine Beobachtungen machte. Aus dem Gesagten geht noch hervor, daß unsere bekannten kleinsten Lebewesen, die mitunter als verhältnismäßig einfach gebaute Organismen an das unterste Ende des Stammbaumes der belebten Natur gestellt werden, anscheinend in einzelnen Fällen doch größere oder kompliziertere Entwicklungskreise durchmachen und daß von einer Unveränderlichkeit der Bakterien im Sinne Cohns nicht die Rede sein kann. Es dürfte bei den einzelnen Bakterienarten ein Polymorphismus herrschen, und deshalb wird die ganze jetzige Systematik der Bakterien wahrscheinlich nur vorläufig gelten, denn sobald gewisse Typen der Entwicklungszyklen bekannt sein werden, muß mit einer Einteilung gebrochen werden, die sich auf rein morphologische Eigentümlichkeiten stützt und Formen in einer Gattung vereinigt, die in entwicklungsgeschichtlicher Beziehung vollständig different sind. Außerdem warnen meine Befunde vor einer allzu einfachen Auffassung der sogenannten Involutionsformen, denn in vielen Fällen wird es sich nicht um Absterbeerscheinungen handeln, vielmehr um das ganz normale Durchlaufen eines besonderen Entwicklungszustandes, der vielleicht für die Erhaltung der Art von der allergrößten Bedeutung ist und die bei einer verhältnismäßig nur geringen Anzahl von Bakterien bekannt gewordenen Sporen möglicherweise zu ersetzen vermag. Um darüber aber eine Entscheidung treffen zu können, sind eine Reihe von Versuchen über die Widerstandsfähigkeit der oben beschriebenen Gebilde

nötig. Derartige Versuche werden nun angestellt und die dabei sich ergebenden Resultate in einer späteren Mitteilung folgen.

Zusammenfassung.

Pseudomonas cerevisiae bildet auf neutraler Nährgelatine bei 22° C runde, mäßig dicke, schwach gelbweiß gefärbte, etwas durchscheinende und in der Mitte leicht kuppenförmig verdickte, scharf begrenzte Kolonien, um die bei längerem Wachstum eine seichte Einsenkung der Gelatine entsteht. Zu einer wirklichen Verflüssigung kommt es nur dann, wenn sehr viele Kolonien in und auf der Nährgelatine knapp nebeneinander liegen. Die tiefliegenden Kolonien sind glatt, kugelig und besitzen eine lichtbraungelbe Eigenfarbe.

Auf Nähragar von neutraler Reaktion entsteht bei 22° C längs des Impfstreiches ein gelbweißer, feuchtglänzender, scharfbegrenzter, mehr zarter Belag ohne besondere Struktur, wenn der Nährboden sehr wasserreich ist. Auf trockenerem Agar bildet sich nur ein schmaler, dünner Belag, der sich langsam verbreitert und dann in den mittleren Partien stark verdickt und dort matt erscheint. Nach einigen Tagen diffundiert ein schwach gelber Farbstoff in das Nährsubstrat, ohne es fluoreszierend zu machen. Das Kondenswasser ist stark getrübt und trägt ein feines, grauweißes Häutchen, das an den Gefäßwänden etwas emporklettert.

Auf der Kartoffelscheibe entsteht ein feuchtglänzender, ziemlich dicker, gelbbrauner Belag, der nach einigen Tagen die Oberfläche bedeckt.

Auf der Scheibe von gekochtem Hühnerei wächst unser Bakterium mit einer hellgelben saftigen Auflagerung, wenn das Weiße des Eies infiziert wurde. Eine besondere Zersetzung der Eiweißmassen war nicht nachweisbar.

In neutrale Nährbouillon verimpft, wächst *Pseudomonas cerevisiae* unter Bildung einer dünnen, derben Kahlhaut von grauweißer Farbe, einer allgemeinen Trübung und eines weißgelben Bodensatzes. Die Flüssigkeit nimmt nach einigen Tagen eine hellgelbe Farbe an.

Auf Peptonwasser ist das Wachstum schlechter, die gebildete Kahlhaut dünner und die allgemeine Trübung geringer.

Pseudomonas cerevisiae wächst auf den genannten Nährsubstraten bei 22° C oder darunter als kurzes, lebhaft bewegliches Stäbchen, ohne eine Neigung zur Kettenbildung zu zeigen. Es besitzt an einem Zellpole ein Büschel feiner, wellig geschwungener Geißelfäden, deren Zahl zwischen 4 und 6 schwankt.

Das Temperaturoptimum unserer Bakterienart liegt um 22° C; sie vermag sich aber selbst bei 0° noch zu vermehren und bildet auf Agar bei 35° C noch einen zarten und dünnen Belag.

Unser Bakterium wächst in höheren Temperaturen als Langstäbchen und bildet lange Fadenverbände, die sich schlangenartig schwach bewegen.

Als Alkaleszenzoptimum für Bouillon hat *Pseudomonas cerevisiae* einen Gehalt von 1 Proz. Normal-NaOH-Lösung. Selbst geringe Mengen von Essigsäure hindern jegliches Wachstum.

Beim Wachstum in Traubenzuckerbouillon findet keine Gasbildung statt und die allgemeine Trübung im Gärungskolben schreitet nur langsam im geschlossenen Schenkel weiter.

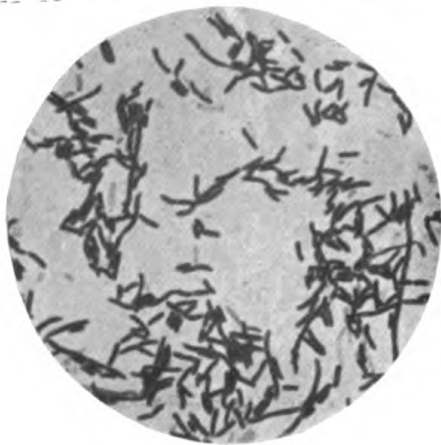


Fig. 1.

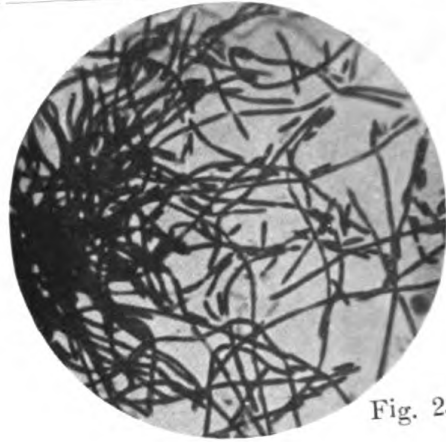


Fig. 2.

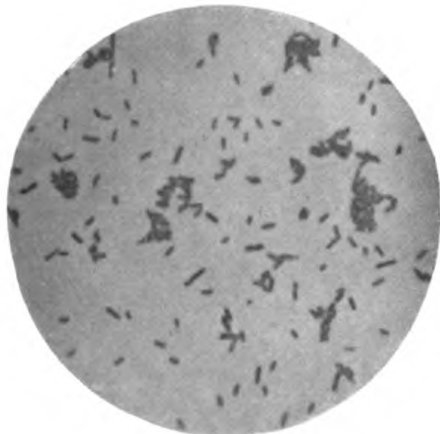


Fig. 3.

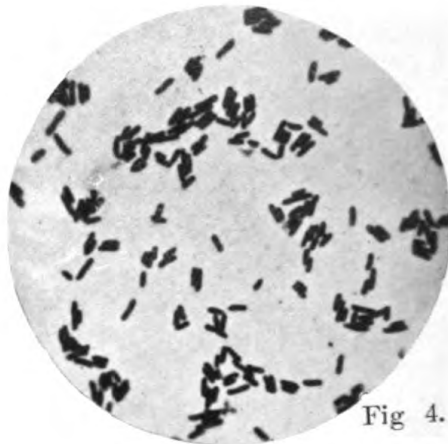


Fig. 4.

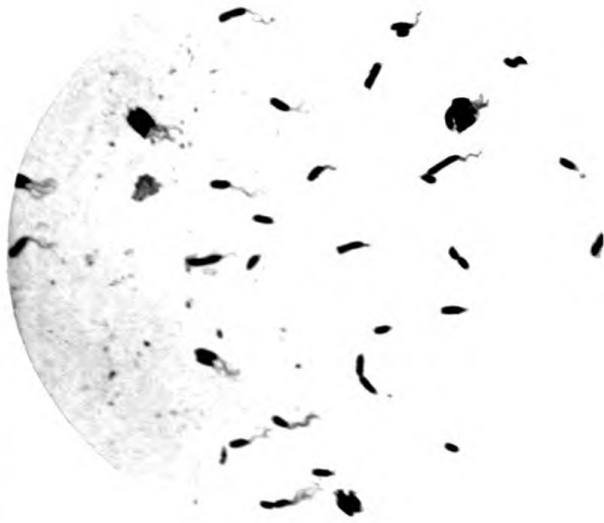


Fig. 5.

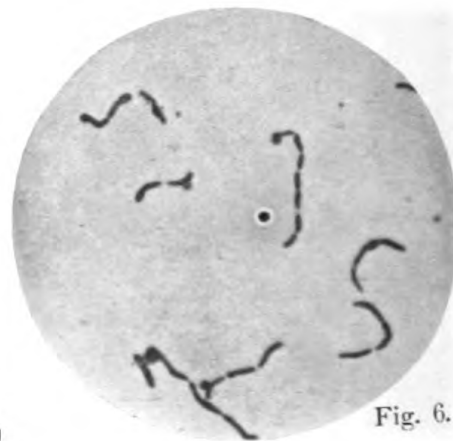


Fig. 6.

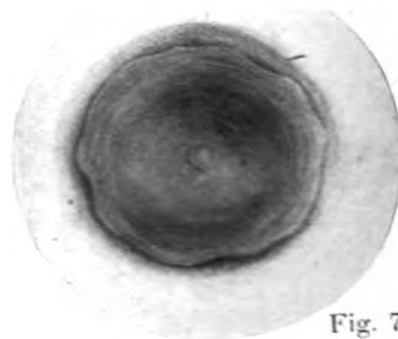


Fig. 7.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena**.

Generated on 2019-09-21 15:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/hvd.32044102988326
Public Domain in the United States; Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In Peptonwasser- und Bouillonkulturen von *Pseudomonas cerevisiae* ist selbst nach langem Wachstum kein Indol nachzuweisen.

Pseudomonas cerevisiae ist ein fakultativer Anaërobier.

Auf der mineralischen Nährlösung II von A. Mayer tritt bei Zusatz von besonderen C- und N-Quellen Wachstum unseres Bakteriums auf. Im allgemeinen ist in Verbindung mit hochzusammengesetzten N-Quellen Traubenzucker eine bessere C-Quelle als Rohrzucker oder gar Glycerin. Bei der Darreichung einfacher N-Quellen ist gerade Rohrzucker die bessere C-Quelle. In den Röhren mit Kaliumnitrat ist schon nach kurzer Zeit eine Nitritbildung nachweisbar.

Pseudomonas cerevisiae erträgt auf Agar gezüchtet die Einwirkung von 60° C durch mindestens eine Stunde und ist erst nach 1½ Stunden sicher sterilisiert. In Bier mit einem Alkoholgehalt von 4—5 Volumprozenten ist die Resistenz gegen diese Temperatur viel geringer, denn eine halbstündige Einwirkung genügt zur vollständigen Sterilisierung.

In Nährbouillon verhindert ein Zusatz von 6 Proz. Aethylalkohol vollständig das Wachstum. In allen Proben mit geringerem Alkoholgehalt findet Wachstum statt.

In sterilisiertem Bier gedeiht unser Bakterium kümmerlich und ruft nur eine geringe Trübung hervor.

Auf mineralischer Nährlösung mit 1 Proz. Chlorammoniumgehalt bildet *Pseudomonas cerevisiae* eigenartige Formen. Die Kurzstäbchen werden länger, sind gewöhnlich zu zweit vereint und das eine davon bekommt eine endständige kolbige Auftreibung von Birnenform. Außerdem bilden sich an der Längsseite der in Ketten vereinten Stäbchen kleine Wärzchen, die zu größeren kugeligen Blasen anschwellen und dann abgeschnürt werden. In frische Nährlösung gebracht, bilden sich aus den genannten Auftreibungen und Kugeln längere, größere und ganz kleine, kurze, bewegliche Zellen. Außerdem liegen oftmals ein größerer und ein kleinerer endständiger Kolben mit der Breitseite aneinander und ein feiner Verbindungsfaden zwischen beiden Gebilden ist sichtbar. Diese Erscheinung erinnert sehr an die Zygosporienbildung höherer Pilze, wodurch nicht ausgesagt sein soll, daß es hier um den gleichen Vorgang handelt.

Tafelerklärung.

Fig. 1. Photogramm eines mit verdünnter Karbolfuchsinlösung gefärbten Ausstriches von einer 24-stünd. bei 35° C auf schief erstarrtem Agar angegangenen Auflagerung. Vergr. 1000:1.

Fig. 2. Mit verdünntem Karbolfuchsin gefärbter Ausstrich vom Kondenswasser der bei Fig. 1 genannten Kultur. Vergr. 1000:1.

Fig. 3. Photogramm eines mit Karbolfuchsin gefärbten Ausstrichpräparates von einer jungen, bei 22° C gehaltenen Peptonwasserkultur unseres Bakteriums. Vergr. 1000:1.

Fig. 4. Mit Gentianaviolettlösung gefärbter Ausstrich einer jungen, 24-stünd. bei 22° C gewachsenen Kolonie auf neutraler Nährgelatine. Vergr. 1000:1.

Fig. 5. Geißelpräparat, nach der vereinfachten Zettnowschen Methode mit gerbsaurer Antimonbeize und Aethylaminsilbersulfatlösung hergestellt. Die Bakterienkultur war auf Agar bei Zimmertemperatur durch 24 Stunden gezüchtet. Vergr. 1000:1.

Fig. 6. Photogramm von *Pseudomonas cerevisiae*, bei 22° C durch 48 Stunden auf Chlorammoniumnährlösung gewachsen und mit verdünntem Karbolfuchsin gefärbt. Vergr. 1000:1.

Fig. 7. Photogramm einer Zeichnung von einer jungen, auf neutraler Nährgelatine bei Zimmertemperatur angegangenen Oberflächenkolonie. Vergr. ca. 30:1.

Ueber Kristallbildung in Kulturen denitrifizierender Bakterien.

[Mitteilung aus dem landwirtschaftlich-bakteriologischen Institut der Universität Göttingen.]

Von **H. B. Hutchinson.**

Bei Versuchen über Denitrifikation fanden wir reichliche Kristallbildung in einigen Kulturen. Da wir gar keine Angabe in der Literatur über eine solche Ausscheidung finden konnten, schien es uns lohnend, weitere Versuche darüber zu machen.

Die Bakterien wurden aus Gartenerde in Giltayscher Lösung gezüchtet und alle 5—6 Tage 3—4 Wochen lang in frische Lösung übergeimpft.

Dabei wurde gefunden, daß, obgleich die Denitrifikation nicht stark war, eine Haut von nadelförmigen Kristallen ausgeschieden wurde und daß die vergorene Lösung stark alkalisch war.

Da die Kristallmassen in den Kontrollkolben nicht gebildet wurden, mußte natürlich die Kristallbildung auf Bakterientätigkeit zurückgeführt werden.

Für die weitere Untersuchung dieser Frage isolierten wir die Bakterien mit Hilfe von Nitratagar und bekamen 5 verschiedene Arten von Organismen, die nicht näher identifiziert wurden: wir machten dann weitere Versuche mit diesen Reinkulturen.

Alkalinität.

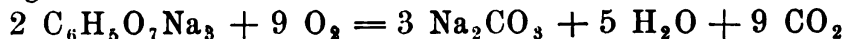
In allen Kulturen der Bakterien in Giltayscher Lösung war eine sehr starke Alkalinität wahrnehmbar, und weil diese sehr auffallend war, suchten wir eine Erklärung dafür.

Die Giltaysche Lösung hat, wie wohlbekannt, die folgende Zusammensetzung:

- 2 g Natriumnitrat
- 2 „ Magnesiumsulfat
- 2 „ Monokaliumphosphat
- 0,2 „ Calciumchlorid
- 5,0 „ Citronensäure

1000 ccm Wasser (dest.) + Na₂CO₃ bis neutral oder schwach sauer.

Vermutlich wird durch die Aufnahme von Kohlenstoff durch die Organismen das citronensaure Natrium gespalten und es entstehen als Endprodukte Kohlensäure, Wasser und Natriumkarbonat nach der folgenden Gleichung:



Da der Sauerstoff aus dem Nitrat durch die Denitrifikationsbakterien herausgenommen wird und der Stickstoff (bei voller Denitrifikation) in die Luft entweicht, bindet sich die freie Kohlensäure an die Base und bildet auch kohlen-saures Natrium, so daß wir zwei Ursachen der Alkalinität haben. Auf Zusatz von verdünnten Säuren schäumte denn auch die vergorene Lösung und Kohlensäure entwich.

Die Alkalinität wechselte je nach der Bakterienart und ihrer Fähigkeit in der genannten Lösung zu wachsen und stieg in einigen, 4 Wochen alten Kulturen so hoch, daß sie derjenigen einer $\frac{1}{10}$ Normalsodalösung gleich war.

Kristallbildung.

Ebenso wie die Alkalinität wechselte auch die Ausscheidung der Kristalle und war in einigen Kulturen stark, während sie in anderen mehr oder weniger zurücktrat. Die Kristalle bildeten bei schlechter Luftzufuhr und höherer Temperatur eine dicke schleimige Schicht an der Oberfläche der Flüssigkeit und waren dann stark mit Bakterien gemengt.

Bei guter Luftzufuhr und niedriger Temperatur bildeten sie schöne große Bündel, welche teils an der Oberfläche teils suspendiert in der Flüssigkeit zu finden waren. Die Kristalle sind hexagonal-nadelförmig und sind in der Mitte zu Gruppen vereinigt. Sie sind in kaltem und heißem Wasser spärlich löslich, löslich dagegen in verdünnten Säuren.

Die Kristalle einiger Kulturen wurden abfiltriert und gut abgewaschen, mehrere Stunden bei 95° C. getrocknet und gewogen. Sie wurden dann in 10-proz. Salzsäure gelöst und nach dem Auswaschen mit warmen und kaltem Wasser wurde die organische Substanz plus Filter wieder getrocknet und gewogen. Die Differenz ergab das Gewicht der Kristalle.

Die salzsäurehaltige Lösung wurde einer chemischen Analyse unterworfen und ergab folgende Resultate:

| | | |
|--|---|----------|
| Gewicht der getrockneten Kristalle | = | 1,4699 g |
| Ca als CaO berechnet | = | 0,0382 " |
| Mg " MgO " | = | 0,3280 " |
| P ₂ " P ₂ O ₅ " | = | 0,6070 " |

Wenn man die kleine Menge von Calcium als unvermeidliche Verunreinigung in Form von Ca₂H₇P₂O₈ berechnet und subtrahiert die dazu notwendige Menge P₂O₅ und H₂O von dem obigen Wert, so bekommt man die Menge der an Magnesium gebundenen Phosphorsäure.

Dementsprechend ist von dem aus der Differenz berechneten Wasser 0,0061 g für C₂H₂P₂O₈ in Abzug gebracht:

| | |
|--|--------|
| H ₂ O gefunden | 0,4967 |
| für C ₂ H ₂ P ₂ O ₈ ab | 0,0061 |
| Rest | 0,4906 |

Die hiernach analytisch in den in Rede stehenden Kristallen gefundenen Mengen von MgO, P₂O₅ und H₂O stimmen wie die folgende Gegenüberstellung zeigt gut zu der Formel MgHO₄ + 3 H₂O¹⁾.

| Gefunden: | | Berechnet nach MgHPO ₄ + 3 H ₂ O | |
|-------------------------------|-----------------------|--|-------|
| MgO | 0,32800 = 23,82 Proz. | 23,14 | Proz. |
| P ₂ O ₅ | 0,55857 = 40,56 " | 40,71 | " |
| H ₂ O | 0,49062 = 35,62 " | 36,15 | " |
| | <u>100,00</u> Proz. | <u>100,00</u> | Proz. |

Die Ausscheidung der Kristalle in den Kulturen schien uns abhängig von der Alkalinität zu sein und infolgedessen forschten wir in dieser Richtung nach.

Die Ernte aus der Kulturen an Kristallen wurde bestimmt und ein Vergleich zwischen der Luftzufuhr und ihrem Einfluß auf die Ernte und Alkalinität angestellt. Eine Reihe von Erlenmeyerschen Kolben von verschiedener Größe wurden mit verschiedenen Quantitäten Giltayscher Lösung gefüllt, so daß die Oberfläche pro Liter Flüssigkeit verschieden war.

Die Kolben wurden mit einer Mischkultur von Bakterien geimpft und 6 Wochen bei 30° gehalten.

1) Debray, Ann. chim. phys. (3) T. LXI. p. 430. Journal f. prakt. Chemie Bd. XCVII. p. 116.

Am Anfang sowie am Ende des Versuches wurden die Acidität resp. Alkalinität bestimmt, sowie die Ernte an Kristallen in jedem Kolben nach dem Versuche. Die Resultate finden sich in folgender Tabelle:

| | I | II | III | IV | V |
|--|---|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Volum der Lösung in den Kulturkolben | 1100 ccm | 650 ccm | 800 ccm | 400 ccm | 650 ccm |
| Größe des Erlenmeyer-Kolbens | 2 Liter | 1 Liter | 1 Liter | 1 Liter | 2 Liter |
| Acidität der Lösung am Anfang pro 100 ccm | = $10 \text{ ccm } \frac{N}{10} \text{ Ba(OH)}_2$ | desgl. | desgl. | desgl. | desgl. |
| Alkalinität der Lösung am Ende pro 100 ccm | = $84 \text{ ccm } \frac{N}{10} \text{ H}_2\text{SO}_4$ | = 96 ccm | = 102 ccm | = 103 ccm | = 104 ccm |
| Oberfläche der Kulturen in qcm pro Liter Lösung | = 43 qcm | = 102 qcm | = 73 qcm | = 120 qcm | = 275 qcm |
| Ernte an Kristallen pro Liter Lösung | = 0,412 g | = 1,155 g | = 1,334 g | = 1,608 g | = 1,585 g |
| Von der Menge der Mg- u. P_2O_5 -Salze, welche ursprünglich der Lösung zugesetzt war, wurden an Kristallen ausgeschieden gefunden in % | 20,60 % | 57,75 % | 66,70 % | 80,40 % | 79,25 % |

Aus dieser Tabelle geht die Wahrscheinlichkeit hervor, daß die Größe der Oberfläche einen Einfluß ausübt auf die Alkalinität und Kristallernte. Jedenfalls steigen in Versuch II—V Oberflächengröße, Alkalinität und Kristallernte gleichsinnig stark im Vergleich zu Versuch I. Ein Vergleich der Versuche II, IV und V untereinander läßt derartige Beziehungen, wenn auch nicht mit mathematischer Genauigkeit, erkennen. Versuch III zeigt dagegen größere Unregelmäßigkeit. Wenn in Versuch IV und V trotz sehr verschiedener Oberflächengröße trotzdem Kristallernte und Alkalinität ziemlich gleich sind, so dürfte dies daher rühren, daß die Tiefe der Flüssigkeitsschicht in beiden Versuchen ungefähr dieselbe war.

Von verschiedenen Seiten ist gezeigt worden, daß Luftzufuhr bei verschiedenen Bakterienarten, einen verschiedenen Einfluß auf die Denitrifikation hat, je nachdem die in Betracht kommenden Bakterien anaerobiotisch, fakultativ anaerobiotisch oder aerobiotisch waren.

Die von uns für diese Versuche verwendeten Arten waren nur aerobiotische, infolgedessen wuchsen bei reichlichem Luftzutritt (größerer Oberfläche) diese Bakterien besser und machten dadurch die Flüssigkeit stärker alkalisch, was zu stärkerer Kristallausscheidung führte.

Es kann aber sein, daß außer der Alkalinität noch ein anderer Umstand auf die Luftzufuhr günstig wirkt und die Kristallausscheidung mitbedingt; dafür spricht, daß nach obiger Tabelle die Stärke der Alkalinität weniger auf die Höhe der Kristallernte wirkte wie die Größe der Oberfläche.

An dieser Stelle fühle ich mich verpflichtet, Herrn Prof. Dr. A. Koch, Direktor des landwirtschaftlich-bakteriologischen Institutes zu Göttingen, für die Anregung zu dieser Arbeit meinen besten Dank auszusprechen.

Nachdruck verboten.

Einiges über den Schwefelkohlenstoff, dessen Wirkung auf niedere pflanzliche Organismen, sowie seine Bedeutung für die Fruchtbarkeit des Bodens.

[Eine kurze zusammenfassende Darstellung nach der einschlägigen Litteratur¹⁾ unter Verwertung eigener Beobachtungen und Untersuchungen als vorläufige Mitteilung.]

Von Dr. Berthold Heinze.

I. Einleitung und einige allgemeine Daten.

Der Schwefelkohlenstoff ist bekanntlich für mancherlei Körper, wie beispielsweise für Phosphor, Schwefel, Jod, Oele, Harze, Fette, ein ganz ausgezeichnetes Lösungsmittel und verdankt besonders dieser Eigenschaft seine ausgedehnte praktische Anwendung und zwar zum Ausziehen von Oelen und Fetten aus Samen, sowie zum Entfetten von Wolle und Wollabfällen. —

Wegen seiner fäulniswidrigen Eigenschaften hat der Schwefelkohlenstoff in der angewandten Naturwissenschaft aber auch schon praktisch früher vielfach zur Konservierung von Fleisch und Gemüse etc. Verwendung gefunden, indem man die betreffenden Nahrungsmittel in einer Atmosphäre aufbewahrte, welche geringe Mengen Schwefelkohlenstoff enthielt, und auch jetzt findet diese Konservierungsmethode wohl hier und da noch Anwendung.

Da der Schwefelkohlenstoff als etwas ölige, leicht entzündliche, an der Luft ziemlich rasch verdunstende, stechend riechende Flüssigkeit, die Atmungsorgane angreift und also auf tierische Pflanzenschädlinge als starkes Kontaktgift wirkt, so fand er weiterhin Anwendung zur Bekämpfung von Pflanzenkrankheiten, welche direkt durch tierische Schädlinge hervorgerufen werden, wie beispielsweise durch den Engerling, den Kürbisranken- und Melonenbohrer, durch die Wurzelmaden, durch die Reblaus, die Blattläuse und Schildläuse, durch die Rübennematoden und andere tierische Schädlinge. —

Als Mittel gegen Pflanzenkrankheiten pilzlicher Natur — als sogenanntes Fungicid — hat man Schwefelkohlenstoff bisher jedoch noch nicht weiter verwandt.

Im übrigen fällt bekanntlich die Einführung desselben in die Reihe der zahllosen Insektenvertilgungsmittel mit dem Auftreten der Reblaus zusammen, und noch gegenwärtig gilt der CS_2 als einziges geeignetes, besonderes Mittel zur Vernichtung der Rebläuse: Infolgedessen wird er in den westdeutschen Weinbaugebieten, wie auch in der Provinz und im Königreich Sachsen alljährlich in größeren Mengen zur Weinbergsdesinfektion benutzt (Hollrung). J. Kühn untersuchte ihn schon 1875 auf seine Brauchbarkeit gegen die Rübennematoden, ohne jedoch auch nur in einem einzigen Falle eine vollständige Entfernung der Nematoden damit zu erzielen. Aehnliche Versuche sind in neuerer Zeit von Hollrung wieder aufgenommen worden: die Erfolge waren teilweise recht befriedigend; das Verfahren selbst ist indessen noch viel

1) Anmerkung: Vergleiche hierzu die am Schlusse der vorliegenden Mitteilung gebrachten Litteraturangaben.

zu wenig durchgearbeitet, um ein sicheres Urteil über dasselbe zu gewinnen. Auch wird man hierbei nach der Ansicht des Verf. die indirekten Wirkungen des CS_2 auf die Rüben, nämlich seine Einwirkung auf die Ackererde, nicht unberücksichtigt lassen dürfen; so ist denn der Schwefelkohlenstoff in neuerer Zeit gegen die verschiedensten Schädiger des Ackerbodens, sowie besonders auch gegen die in lagerndem Getreide auftretenden Insekten mit allerdings zuweilen sehr wechselndem Erfolge verwandt worden. —

Wurde also nach den vorstehenden kurzen Ausführungen der Schwefelkohlenstoff in der Landwirtschaft früher vorwiegend zur Vertilgung tierischer Schädlinge der Pflanzen, wie oben erwähnt, vor allem zur Bekämpfung der Reblaus benützt, so konnte doch schon im Jahre 1894 von zwei Seiten obendrein auf eine ertragsteigernde Wirkung hingewiesen werden, wenn der Boden einer Schwefelkohlenstoffbehandlung unterzogen wurde: dieser Hinweis geschah fast gleichzeitig und unabhängig voneinander von Oberlin in Deutschland (Beblenheim im Elsaß) und von Girard in Frankreich. —

Oberlin vertiefte noch das vorliegende Problem, indem er in seiner diesbezüglichen Arbeit nachweist, daß der Schwefelkohlenstoff ein ausgezeichnetes Mittel gegen die Bodenmüdigkeit des Weinstockes ist.

Auf diese Erfahrung gründete er, wie zumal in Winzerkreisen genugsam bekannt sein dürfte, eine Rebenverjüngungsmethode, bei welcher Brache oder langjährige Zwischenkultur vermieden werden kann, wenn ein Weinberg neu anzulegen ist (Koch, Hiltner und Störmer).

Je nach dem Standpunkte, welchen in der Folgezeit die einzelnen Forscher einnehmen, um die Frage nach der zu Tage tretenden, ganz auffallenden Wirkung des Schwefelkohlenstoffes zu untersuchen und auf Grund ihrer Untersuchungsergebnisse zu erklären, mußte naturgemäß die Beantwortung derselben verschiedenartig ausfallen; als eine auch nur einigermaßen vollgültige, befriedigende Erklärung konnte indessen bisher noch keine derselben angesprochen werden, so daß im Jahre 1898 Wollny in seiner diesbezüglichen Arbeit den Stand der Frage nach sorgsamer Erwägung dahin zusammenfassen konnte, daß „eine Erklärung für die günstigen Wirkungen, welche der Schwefelkohlenstoff (unter gewissen Bedingungen) auf die Produktionsfähigkeit des Kulturlandes ausübt, zur Zeit noch nicht gefunden ist“ (cf. auch Koch, Hiltner). —

Unstreitig hat nun Oekonomierat Oberlin — [welcher sich bekanntlich auch sonst in unserem Elsaß um den Rebbau große Verdienste erworben hat, wie beispielsweise durch seine Züchtung gegen die Reblaus widerstandsfähigerer Reben auf sogenannter amerikanischer Unterlage], — dadurch die Aufmerksamkeit weiterer Kreise auf eines der wissenschaftlich interessantesten und zugleich praktisch viel versprechendsten Probleme der Biologie gelenkt, daß er, wie besonders Hiltner und Störmer des näheren ausführen (cf. deren Untersuchungen über „die Wirkung des CS_2 auf das Bakterienleben des Ackerbodens“) durch seine schöne Arbeit die Frage der Schwefelkohlenstoffwirkung mit derjenigen nach den Ursachen der Bodenmüdigkeit verbunden hat.

„Denn von der Bodenmüdigkeit (schreiben Hiltner und Störmer), eine dem Landwirt, dem Winzer, dem Gärtner wohlbekannte, in ihrem Wesen aber immer dunkel gebliebene Erscheinung, wurde seit langem vermutet, daß sie zum Teil verursacht werde von kleinsten Or-

ganismen aus dem Pflanzenreiche, den Bakterien oder Pilzen zugehörig, über deren Bedeutung im Boden noch wenig bekannt war, von denen man aber glaubte, daß sie von großer Wichtigkeit für das Pflanzenwachstum seien. War nun der Schwefelkohlenstoff ein Mittel gegen die Bodenmüdigkeit, so gewann die biologische Erklärung der letzteren gegenüber der rein chemischen, die bekanntlich Nährstoffmangel annimmt, an Wahrscheinlichkeit, und gleichzeitig ergaben sich gewisse Rückschlüsse für eine Erklärung der Schwefelkohlenstoffwirkung selbst.“

Nach dieser Richtung besprechen auch alle Forscher die CS_2 -Wirkung, ausgenommen A. Koch, welcher nach seinen Untersuchungsergebnissen lediglich eine direkte Wirkung des CS_2 , d. h. eine Reizwirkung“ desselben auf die Pflanze als Erklärung gelten lassen will (s. später).

Selbst wenn nun A. Kochs Erklärung den Tatsachen ganz oder nur teilweise entsprechen sollte, was trotz seiner immerhin schon umfangreicheren Untersuchungen und deren Ergebnissen übrigens noch keineswegs einwandfrei begründet ist, so bleibt doch ohne Zweifel nach wie vor zu untersuchen, in welcher Weise der Schwefelkohlenstoff auf die Mikroorganismenwelt des Bodens einwirkt und in welcher Weise davon weiterhin das Pflanzenwachstum beeinflußt wird. —

II. Der Schwefelkohlenstoff und seine Derivate

entsprechen in ihrer Zusammensetzung vollständig der Kohlensäure und den einzelnen Verbindungen dieser Säure und spielen infolgedessen zweifellos auch im Ackerboden bei den mannigfachen Stoffumwandlungen eine gewisse Rolle, wenn nicht gar unter Umständen eine nicht unwichtige Rolle, zumal man auf das Vorkommen des Schwefelkohlenstoffes und seiner Abkömmlinge im Boden bisher nur wenig geachtet hat, und zwar besonders wohl aus dem Grunde, weil diese Stoffe im Ackerboden im allgemeinen immer nur in relativ geringen Mengen angetroffen werden dürften, wo dieselben in der Hauptsache in allerlei Wurzelrückständen sich vorfinden, bezw. bei deren Zersetzung entstehen.

Wie schon erwähnt, ist also der Schwefelkohlenstoff oder das Kohlenstoffdisulfid — CS_2 mit 15,79 Proz. C und 84,21 Proz. S — ein vollständiges Analogon des Kohlensäureanhydrids; er wurde zum ersten Male von Lampadius (1796) dargestellt, und wird in geeigneter Weise fabrikmäßig durch Ueberleiten von Schwefeldampf über glühende Kohlen gewonnen. In geringen Mengen findet sich der Schwefelkohlenstoff im Steinkohlenteer und im Rohbenzol; ferner soll er durch die Lebensfähigkeit von *Schizophyllum lobatum* gebildet werden. Zweifellos entsteht er bei verschiedenen organischen Zersetzungsprozessen neben Schwefelwasserstoff und anderen Stoffen, wenn auch noch keine speziellen Untersuchungen darüber vorliegen.

CS_2 ist eine wasserhelle, stark lichtbrechende Flüssigkeit, welche bei 46° siedet und bei -116° C zu einer festen Masse erstarrt; er ist in Wasser fast unlöslich und besitzt im reinen Zustande einen angenehm ätherischen Geruch. Von konzentrierten Säuren, ferner von KMnO_4 etc., wird er kaum angegriffen.

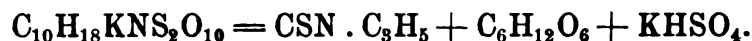
Beim Stehen im Sonnenlichte zersetzt sich übrigens der CS_2 allmählich unter Abscheidung rotbrauner Flocken von Kohlenstoffmonosulfid (CS) und Schwefel.

Mit den Schwefelverbindungen der Alkalien verbindet er sich zu sogenannten Sulfosalzen.

Die sulfokohlensäuren Salze entsprechen in ihrer Zusammensetzung genau den Salzen der CO_2 ; die Sulfokarbonate der Alkalien sind in Wasser in gelber oder gelbbrauner Farbe löslich; diejenigen der Erdalkalien sind indessen in H_2O nicht löslich. Bei der Zersetzung liefern die Sulfokarbonate neben Schwefelwasserstoff kohlensäure Salze.

Andere Schwefelkohlenstoffderivate, wie Schwefelcyanammonium, Thiocarbamidsäuren, Thioharnstoffe und die verschiedenen Senföle, sowie deren gegenseitigen Beziehungen, sollen hier nicht näher erörtert werden, da eine eingehendere diesbezügliche Besprechung im Rahmen dieser Arbeit zu weit führen würde; es mag jedoch nicht unerwähnt bleiben, daß das Allylsenföl $\text{C}_3\text{H}_5-\text{N}=\text{C}=\text{S}$ vorwiegend den wirksamen Bestandteil des aus dem schwarzen Senfsamen — *Sinapis nigra* — oder aus dem Sareptasensamen — *Sinapis juncea* — bereiteten ätherischen Oeles bildet; weiterhin findet es sich in mehr oder weniger reinem Zustande, gemischt namentlich mit wechselnden Mengen von Diallylsulfid $(\text{C}_3\text{H}_5)_2\text{S}$ in den ätherischen Oelen der Meerrettigwurzel — *Cochlearia armoracia* —, sowie anscheinend auch in den Wurzeln mancher Akaziaarten, ferner im Kraute und Samen von *Alliaria officinalis*, *Capsella bursa pastoris*, *Iberis amara*, *Thlaspi arvense*, *Brassica Napus* (var. *annua*, *hiemalis*) *Raphanus raphanistrum*, *Sisymbrium officinale* und anderen Cruciferen. Die Wurzeln von *Reseda lutea* und *luteola* enthalten zwar ein Senföl, aber kein Allylsenföl, sondern Phenylsenföl $(\text{C}_6\text{H}_5-\text{N}=\text{C}=\text{S})$. (E. Schmidt.)

Im übrigen ist das Allylsenföl in dem Senfsamen und in den soeben erwähnten Pflanzen keineswegs fertig gebildet vorhanden, sondern es entsteht erst infolge der Einwirkung des in den Senfsamen etc. befindlichen, fermentartigen Myrosins auf das in den Samen des schwarzen Senfes und des Sareptasenfes (nicht aber im weißen Senfe) und aller Wahrscheinlichkeit nach auch in obigen Pflanzen enthaltene myronsaure Kalium (Sinigrin) bei Gegenwart von Wasser nach der Gleichung:



Die Senföle geben unter geeigneten Bedingungen auch alkylierte Thioharnstoffe; die Bildungsweisen der letzteren sind denjenigen des Harnstoffes durchaus ähnlich. Daß auch die mannigfachen Schwefelkohlenstoffderivate auf niedere pflanzliche Organismen, wie Algen, Pilze und Bakterien, in gar verschiedener Weise einwirken können, unterliegt kaum einem Zweifel; die Art und Weise ihrer Einwirkung muß indessen erst durch besondere Untersuchungen klargelegt werden und muß künftigen Forschungen vorbehalten bleiben.

III. Die bisherigen älteren und neueren Versuche über die Einwirkung des Schwefelkohlenstoffes auf niedere pflanzliche Organismen.

Im Anschluß an die umfangreicheren, von Herrn Prof. Dr. Krüger und dem Verf. auf Veranlassung der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft in Angriff genommenen und nunmehr auch bereits zu einem gewissen vorläufigen und in seinen Ergebnissen auch nicht unbefriedigenden

Abschluß gebrachten Untersuchungen über die Brache¹⁾, wurden neben anderen Versuchen auch eingehendere Versuche über die Bedeutung des Schwefelkohlenstoffes für die Organismenflora des Bodens sowie für die Ackererde selbst in die Wege geleitet.

Nach dem kurzen Berichte Prof. Krügers (Referat über die ersten diesbezüglichen Untersuchungen) in der Februarsitzung (16. Febr. 1905) des Sonderausschusses für Bodenbakteriologie der deutschen Landwirtschaftsgesellschaft fand im Bracheboden unter den obwaltenden Versuchsbedingungen und Witterungsverhältnissen stets eine erhebliche Zunahme an Salpeterstickstoff statt und es konnte eine oft das Doppelte betragende Zunahme an sogenannten gelatinewüchsigen Bakterienkeimen beobachtet werden.

Besonders interessante Befunde ergaben jedoch die Versuche über den Einfluß von Schwefelkohlenstoff und weiterhin auch von Formaldehyd, Karbolsäure und Wasser auf das Organismenleben im Ackerboden. So zeigen bei CS₂-Behandlung die gelatinewüchsigen Keime in einem gewissen Gegensatz zu den weiterhin noch zu besprechenden Untersuchungen von Hiltner und Störmer anfangs keinerlei erhebliche Abnahme, dann aber in Uebereinstimmung mit den erwähnten Versuchen eine sehr auffallende Zunahme bis zu einer das 5—10fache betragenden Höhe des für die verwandte Gelatine festgestellten Anfangskeimgehaltes bzw. des Keimgehaltes der von den unbehandelten Kontrollparzellen entnommenen Erden. Wegen verschiedener Schwierigkeiten, welche hauptsächlich in der bisher zu den Keimzahlprüfungen angewandten bakteriologischen Technik ihre Erklärung finden, konnte jedoch bei dem ziemlich umfangreichen Untersuchungsmateriale von Krüger und dem Verf. auf eine besondere genaue Bestimmung der Keimzahlen verschiedener Organismenarten, wie beispielsweise neben den Gelatine nicht verflüssigenden Bakterien auf eine Bestimmung der Gelatine verflüssigenden Bakterien, ferner der sogenannten Streptothrixpilze, der Schimmelpilze etc. noch keine besondere Rücksicht genommen werden und zwar in ähnlicher Weise, wie mit deren Bestimmung von Hiltner und Störmer (siehe später) ein Anfang gemacht worden ist.

Im übrigen muß zur Erklärung der von den Hiltner- und Störmerschen zum Teil etwas abweichenden Befunden unter Berücksichtigung anderer Witterungs- und Bodenverhältnisse erwähnt werden, daß von Krüger und dem Verf. auch ein anderer Nährboden, nämlich ein traubenzuckerhaltiger, verwandt worden ist. Das nach Hiltner und Störmer bei Anwesenheit von Zucker bedingte schleimige Wachstum der Kolonien konnte Verf. in auffallender Weise wenigstens nicht beobachten, so daß von einem allgemeinen direkten Nachteil solcher Gelatine im Sinne der genannten Forscher wohl kaum geredet werden kann, zumal wenn man bedenkt, daß Zucker für allerlei gärungserregende Bodenorganismen ein besonders genehmer Zusatz ist.

Bezüglich der Stickstofffrage mag schon an dieser Stelle besonders

1) Bei denen zunächst besonderer Wert auf eine vorläufige, befriedigende Klärung der Fragen gelegt wurde, welche Aenderungen der Organismenbestand erleidet, wie sich die Stickstoffbilanz stellt, welche Wandlungen weiterhin der Stickstoff erfährt und ob schließlich eine mehr oder weniger weitgehende Aufschließung der Mineralstoffe bei der Brache stattfindet.

hervorgehoben werden, daß die Nitrifikation infolge der CS_2 -Behandlung verzögert, wenn nicht eine Zeit lang sogar völlig unterdrückt wird, daß hingegen der Gehalt an Gesamtstickstoff im Boden eine nicht unerhebliche Vermehrung erfährt.

Die ausführlichere Bearbeitung des schon ziemlich umfangreich gewordenen Materiales ist in Vorbereitung und es wird dessen Bekanntgabe in nächster Zeit erfolgen.

Die ausführlichsten Untersuchungen mit gar manchem wichtigen Ergebnisse über die Wirkung der CS_2 auf die niedere pflanzliche Organismenwelt sind bisher von Hiltner und Störmer veröffentlicht worden und es mag an dieser Stelle zunächst folgendes hervorgehoben werden:

Trotz der vielfach auftretenden Schwankungen ist es bei den mannigfachen Keimzahlprüfungen unverkennbar, wie ähnlich bei diesen zeitlich oft weit auseinanderliegenden Untersuchungen die biologische Zusammensetzung der auf Gelatine wachsenden Organismenwelt ist: Auf alle Fälle bieten die Verhältnisse so viel Aehnlichkeit, daß ein Vergleich zur Gewinnung einer Grundlage möglich ist, und dieser zeigt uns zunächst nach Hiltner und Störmer, daß sich die Organismenflora in der unbehandelten Erde bei zureichendem Wassergehalte aus etwa 20 Proz. sogenannten Streptothrixarten, 75 Proz. nicht verflüssigender Arten und 5 Proz. verflüssigenden Arten (bei Anwendung der zuckerfreien, schwach alkalischen Fleischwasserpeptongelatine) zusammensetzt, wenn weder Winter, noch Vorfrucht, noch irgend ein anderer Faktor seinen Einfluß geltend macht; hieraus leiten Hiltner und Störmer ein Gesetz ab, nach welchem die Organismenwelt des Ackerbodens unter normalen Verhältnissen in einem inneren Gleichgewichtszustande sich befindet.

Durch eine CS_2 -Behandlung werden alsdann im Boden vorhandene Organismen sehr stark geschädigt, ohne indessen vollständig vernichtet zu werden: die Schädigung kann übrigens, je nach der Dauer der Einwirkung, den Witterungs- und Feuchtigkeitsverhältnissen und der Menge des eingeführten CS_2 naturgemäß eine sehr verschiedene Höhe annehmen; sie erreichte in den von Hiltner und Störmer untersuchten Fällen, unter für die Schädigung allerdings sehr günstigen Bedingungen, eine Höhe von 70—75 Proz. für die Gesamtmenge der gefundenen bzw. zählbaren Organismen.

Die Schädigung erstreckt sich jedoch keineswegs gleichmäßig auf alle Bakterienarten: die verflüssigenden Arten werden gering oder gar nicht, die sogenannten Streptothrixarten bei weitem am stärksten vermindert; daraus geht schließlich hervor, daß

„die Schwefelkohlenstoffwirkung eine erhebliche Störung in dem Gleichgewichte der Arten der Organismenflora des (Dahlemer) Ackerbodens“ veranlaßt.

Es folgt alsdann der anfänglichen Schädigung der Organismen durch den CS_2 nach dessen Verschwinden eine rapide Vermehrung: die Vermehrung selbst wird in erster Linie durch das starke Anwachsen der Gruppe der Gelatine nicht verflüssigenden Bakterien bewirkt; sehr zurücktretend im Vergleich zu dieser Gruppe erstreckt sie sich auch auf die Streptothrixarten und in geringem Maße beteiligen sich ebenfalls die verflüssigenden Bakterien daran.

In gutem Einklange mit der Tatsache, daß die Streptothrixarten besonders stark durch die Schädigung betroffen werden, steht alsdann, daß sie auch während der Vermehrung ihre frühere Keimzahl nicht wieder erreichen, sondern zurückgedrängt und überwuchert bleiben. Dieses Zurückdrängen der Streptothrixarten muß daher nach Hiltner und Störmer als eine Folge der durch die Schädigung bedingten Gleichgewichtsstörung aufgefaßt werden.

Im übrigen läßt sich aus dem gebrachten Zahlenmateriale entnehmen, daß in der mit CS_2 behandelten Erde die absoluten Zahlen für sämtliche Arten die entsprechenden in der unbehandelten Erde unter Umständen übersteigen können; auf alle Fälle ergibt sich also nach Hiltner und Störmer in Zusammenfassung aller Resultate, daß das bedeutende Anwachsen der auf Gelatine wachsenden Organismenzahl in dem Dahlemer Boden nach einer Behandlung mit CS_2 hauptsächlich durch die starke Vermehrung einiger weniger Bakterienarten aus der Gruppe der sogenannten Gelatine nicht verflüssigenden Organismen veranlaßt wird.

Zu den Resultaten, welche bei der Bestimmung der auf Gelatine nicht wachsenden Arten gewonnen wurden, ist zunächst zu bemerken, daß die Verff. versuchten, nach der im 1. Abschnitte ihrer Arbeit dargelegten Methode die nitrifizierenden, die denitrifizierenden, die pektinvergärenden, sowie die Traubenzucker in N- armer Lösung vergärenden Organismen in flüssigen Nährmedien ihrer Zahl nach zu bestimmen.

Es ist ihnen indessen bislang nicht geglückt, die beiden nitrifizierenden Arten der Zahl nach im Boden zu bestimmen und sie führen aus der Litteratur einige Angaben von Pagnoul und weiterhin von Wollny an, nach denen die Salpeterbildung mit CS_2 behandelter Böden quantitativ gemessen wurde (siehe später).

Hier mag nur erwähnt werden, daß die sehr interessanten, in ihren Ergebnissen vollständig übereinstimmenden Versuchsreihen zeigen, daß der CS_2 die Nitrifikation auf längere Zeit hinaus unterdrücken kann (siehe später).

Wenn die Verff. also auch nicht die sogenannten nitrifizierenden Organismen der Zahl nach im Boden zu bestimmen vermochten, so bringen sie doch weiterhin schon einige Angaben über die anderen oben genannten 3 Artengruppen:

1) Die denitrifizierenden Arten, im Boden ursprünglich sehr zahlreich vorhanden, werden durch den CS_2 in der Periode der Schädigung fast ganz vernichtet und vermögen sich selbst im Laufe von 2 Jahren nicht wieder in ihrer ursprünglichen Zahl zu regenerieren.

2) Die Pektinvergärer sind im Dahlemer Boden in etwa gleich hoher, wie die denitrifizierenden, vorhanden, und erleiden durch die CS_2 -Behandlung trotz anfänglicher Dezimierung in der Periode der Schädigung keine fernere Einbuße.

3) Bezüglich der Traubenzuckervergärer (*Clostridium*-arten) wagen die Verff. eine sichere Angabe über die Beeinflussung durch den CS_2 aus der einen vorliegenden Untersuchung nicht abzuleiten.

Im übrigen finden sich in der Litteratur nur noch wenige Angaben über die direkte Einwirkung von CS_2 auf die niedrige

pflanzliche Organismenwelt; und meist ist es auch nur wenig mehr als ein kurzer Hinweis auf die besondere Wirkung des CS_2 auf die eine oder andere Organismenart.

Umfangreichere Untersuchungen über die Wirkung des CS_2 im Boden sind vor allem noch von A. Koch im direkten Zusammenhange mit seinen Versuchen über die Ursachen der Bodenmüdigkeit der Reben bekannt gegeben worden; seine Versuche befassen sich allerdings im allgemeinen nur wenig mit der Art und Weise der Einwirkung des CS_2 auf die niederen pflanzlichen Organismen; da vor allem schon Oberlin der Annahme zuneigt, daß der CS_2 durch eine Abtötung pflanzschädlicher Bodenbakterien seine günstige Wirkung ausübt (indem er nämlich die Frage aufwirft, wie es komme, daß Klee in dem jahrelang mit Hülsenfrüchten bebauten, also an Knöllchenbakterien reichen Boden schlecht wächst, gut aber nach einer Behandlung desselben Bodens mit CS_2), so läge auch nach Koch diese Annahme wohl am nächsten, daß der CS_2 wie auf Insekten so auch auf Bakterien tötend wirke und die Ertragssteigerung in mit CS_2 behandelten Boden auf eine Abtötung schädlicher Organismen durch CS_2 zurückzuführen sei, wenn nicht für ihn diese Erklärung von vornherein wegen der verhältnismäßig geringen, bei den Oberlinschen Versuchen zur Verwendung gekommenen CS_2 -Mengen (2—400 ccm auf 1 qm) und dann wegen der großen Flüchtigkeit des CS_2 unwahrscheinlich würde; seine Ansicht, daß CS_2 in anderer Weise wirken müsse, sucht Koch weiterhin dadurch zu stützen, daß bei Versuchen in kleinen Bodenproben, die mit großen Mengen von CS_2 mehrere Tage in Berührung gelassen wurden, jedenfalls nicht alle Bakterien getötet waren, und daß in mit CS_2 versetzter Bouillon, in welcher man nach Wochen den CS_2 noch unten liegen sah, Bakterien sich üppig entwickelten; weiterhin führt Koch an, daß der in mit Erde gefüllte Blumentöpfe nach dem Oberlinschen Verfahren eingeführte CS_2 — 50 ccm auf den Topf von 33 cm Durchmesser — nicht einmal die empfindlichen Knöllchenbakterien zu töten vermochte, denn in diese Erde gesätes *Trifolium incarnatum* zeigte bald nach dem Aufgange reichlich Knöllchen, während in durch Hitze bakterienfreigemachtem Boden die Kleepflanzen nur ganz vereinzelte Knöllchen bildeten, und noch lange nachher, infolge der Abwesenheit der Knöllchen, weit hinter den erstgenannten zurückblieben.

Koch führt alsdann noch einige weitere Versuche an, welche dartun sollten, ob möglicherweise der CS_2 einige besonders empfindliche Organismen in ihrer Entwicklung hindert, bezw. dieselben sogar abtötet. Nach alledem kommt Koch zu dem Schluß, daß der CS_2 nicht dadurch wirkt, daß er Bakterien im Boden tötet; er stellt vielmehr die CS_2 -Wirkung als eine direkte Wirkung dieses Stoffes („Reizwirkung“) auf die Pflanzen hin.

Bei genauerer Durchsicht ist nun aber die Versuchsanordnung Kochs zur Lösung der Frage, wie CS_2 auf niedere pflanzliche Organismen wirkt, keineswegs einwandfrei; manche Schlußfolgerungen (aus Versuchen mit sterilisierten Böden) lassen sich direkt anfechten; auch unterläßt er, aus den Versuchen mit Kleepflanzen den Schluß zu ziehen, daß möglicherweise der CS_2 auf die Entwicklung gewisser Organismen, in diesem Falle besonders auf die Knöllchenorganismen, günstig einwirkt. Zur sicheren vorläufigen Entscheidung der Frage hätten von Koch die diesbezüglichen Versuche vor allem mehr variiert werden müssen. Im übrigen kommt Verf. auf die Kochsche Auseinandersetzung über die Be-

deutung des CS_2 für den Boden und die Pflanzen etwas eingehender noch im nächsten Abschnitte zurück.

In Bezug auf den Einfluß des CS_2 auf die Nitrifikation fand weiterhin außer Pagnoul und Wollny auch Chaudons de Briailles, daß die Salpeter bildenden Organismen in ihrer Tätigkeit durch CS_2 nur für einige Zeit gehemmt werden, mithin also die Salpeterbildung selbst zwar anfangs etwas verlangsamt, späterhin aber gefördert werde.

Aus manchen Versuchen über die Ausnützung des Salpeters bezw. des Stallmistes wird von Wagner bezw. von Gerlach, bezw. weiterhin auch von Morgen auf eine schädigende Wirkung des CS_2 auf die sogenannten denitrifizierenden Organismen geschlossen.

Ueber die Einwirkung des CS_2 auf Gärungen, besonders auf die Salpetergärung, wird auch von Perrand berichtet; die Arbeit selbst bezw. ein Referat über dieselbe konnte indessen bisher nicht eingesehen werden, da auch in Kochs Jahresberichten über die Gärungsorganismen nur die Literatur angegeben ist.

Schließlich wird noch von Kurzwelly, welcher den Einfluß von Giften (Alkohol, Aether, Benzol, Schwefelkohlenstoff, Chloroform, Benzin u. s. w.) auf trockene Organismen und zwar u. a. auf die Sporen von *Aspergillus niger* und *Phycomyces nitens* und von *Bacillus subtilis*, auf die vegetativen Zustände von *Saccharomyces cerevisiae*, von *Micrococcus prodigiosus* und *Sarcina rosea* untersuchte, berichtet, daß gegenüber den vegetativen Zuständen die Dauerformen die weit größere Widerstandsfähigkeit aufweisen; im übrigen mag nur noch erwähnt werden, daß *Sacch. cerevisiae* beim Liegen in Schwefelkohlenstoff auffallend schnell abstarb und daß sich die Pilzsporen viel widerstandsfähiger verhielten.

Im folgenden mag nunmehr noch in Kürze einiges über die eigenen Beobachtungen und Untersuchungen d. Verf. über die Wirkung des CS_2 auf Mikroorganismen berichtet werden.

Bezüglich der Keimzahlen in behandelten (CS_2) und unbehandelten Böden wurden von Krüger und dem Verf. im allgemeinen ähnliche Zahlen gefunden, wie oben bei Erörterung der Versuche von Hiltner und Störmer angegeben wurde. Wie schon erwähnt, wird indessen von Krüger und dem Verf. erst ausführlicher darüber im Zusammenhange mit den bisherigen Ergebnissen der Untersuchungen über die Brache berichtet werden.

Inzwischen konnte Verf. verschiedene Beobachtungen machen, welche einmal die bisherigen Anschauungen über die Wirkung des CS_2 auf Mikroorganismen stützen, dann aber auch zu einer weiteren Klärung der CS_2 -Frage führen dürften.

In der Literatur findet sich bekanntlich verschiedentlich der Hinweis, daß der Schwefelkohlenstoff auf die Fäulnis hemmend einwirkt, und daß demnach Fäulnis erregende Organismen mannigfacher Art in ihrer gedeihlichen Entwicklung gehindert, wenn nicht gar unterdrückt bezw. abgetötet werden.

Einige direkte Versuche des Verf. über die Einwirkung des CS_2 auf Fäulnisorganismen — und zwar auf Reinkulturen von *Bacterium fluorescens* und *Proteus vulgaris* — [Organismen, welche sich übrigens fast regelmäßig in größerer Anzahl auch in Ackerböden vorfinden] — ergaben, daß schon bei Vorhandensein von relativ geringen Mengen CS_2 in flüssigen Kulturen keine nennenswerte Entwicklung

dieser Fäulnisorganismen erfolgt und daß bei größerer CS_2 -Gabe eine Entwicklung überhaupt nicht festgestellt werden konnte; über die tödlich wirkende CS_2 -Gabe konnte noch kein sicherer Aufschluß gewonnen werden. Aehnliche Resultate konnten bei Rohkulturen [flüssige Bodenkulturen — mit besonderer C-Gabe in Form von Traubenzucker und mit besonderer N-Gabe in Form verschiedener Stickstoffverbindungen — mit und ohne Phosphorsäurezusatz] erhalten werden, wobei allerdings zu bemerken ist, daß eine intensive Fäulnis — ähnlich der Kotmistzersetzung — unter den gerade eingehaltenen Versuchsbedingungen nur in den Kulturen ohne Phosphorsäuregabe eintrat und daß in den entsprechenden Kulturen mit CS_2 diese Fäulnis unterdrückt wurde.

In den Phosphorsäurekulturen (vor allem auch in denen ohne CS_2) konnte meist nicht einmal die Spur einer begonnenen Eiweißzersetzung, geschweige denn einer bereits weit vorgeschrittenen Fäulnis wahrgenommen werden, auch nicht nach ziemlich langer Kulturzeit. —

Weiterhin konnte in geeigneten flüssigen traubenzuckerhaltigen Bodenkulturen (mit reichlichen Impferdemengen) festgestellt werden, daß die eigentlichen Gärungsorganismen des Ackerbodens — nämlich die vorwiegend als Säurebildner zu bewertenden sogenannten Clostridienformen und Granuloseorganismen und unter letzteren besonders die als spezielle Pektinvergärer in Betracht kommenden sogenannten Plectridienformen — schon durch eine sehr geringe Zugabe von CS_2 in ihrer spezifischen Tätigkeit so gehindert werden, daß man keinerlei augenscheinliche Gärung unter Kohlensäureentwicklung und nennenswerter organischer Säurenbildung bemerken konnte. Mit wenig frischer Bracherde, sowie auch mit CS_2 behandelter Bracherde als Impferde konnten hingegen in 1 Proz. sterilisierten Dextrosewasserkulturen (Leitungswasser) ganz auffallend starke Plectridienvegetationen erhalten werden. Auf alle Fälle wird man die allmähliche teilweise Mineralisierung organischer Substanz durch säurebildende Bodenorganismen, wie die eben erwähnten, durch CS_2 in verschieden starker Weise beeinflussen und also unter Umständen sogar in die eine oder andere gewünschte Richtung leiten lernen.

Die sogenannten Streptothrixpilze werden durch CS_2 ohne Zweifel stark geschädigt, während die eigentlichen Schimmelpilze, besonders die speziellen Bodenschimmelpilze nach den bisherigen, allerdings erst wenigen vorläufigen speziellen Untersuchungen des Verf. bei einer CS_2 -Behandlung des Bodens wie auch bei indirekten flüssigen Bodenkulturen mit CS_2 -Zugabe eher eine nicht unbedeutliche Förderung als eine nennenswerte Schädigung in ihrer Entwicklung durch denselben zu erfahren scheinen.

Ob freilich die vorher genannten sogenannten Streptothrixpilze sich späterhin event. nicht um so freudiger im Boden entwickeln werden, wenn bereits längere Zeit nach der CS_2 -Behandlung verstrichen ist, muß erst durch weitere, viel ausgedehntere Untersuchungen festzustellen versucht werden. Im übrigen müssen diese Organismen vorwiegend als sogenannte Humusvergärer bewertet werden; sie spielen demnach im Boden ohne Zweifel eine recht wichtige Rolle.

Auch Algen (grüne und blaugrüne; Chlorophyceen und Cyanophyceen) scheinen im allgemeinen durch CS_2 -Behandlung des Bodens bzw. durch CS_2 -Gaben zu den diesbezüglichen flüssigen Kulturen eher eine Förderung als eine Schädigung zu erleiden; es konnten selbst in Nährlösungen, in denen keine weitere C-Nahrung gegeben

worden war, sondern nur geringe variable Mengen CS_2 und Bracherde bzw. CS_2 -behandelte Bracherde als Impferde in geringen Mengen, in welchen also Organismen lediglich auf die CO_2 der Luft bzw. event. auf den Kohlenstoff im Schwefelkohlenstoff angewiesen waren, leidlich gute Algenvegetationen erzielt werden.

Sehr üppige Algenvegetationen (vorwiegend Nostocaceen) konnte man bei CS_2 -behandelter Bracherde beobachten, welche man längere Zeit mit größeren und kleineren Mengen destillierten und sterilisierten Wassers befeuchtet bzw. übergossen stehen ließ. Auch Azotobakterkolonien konnten bei diesen und ähnlichen anderen Bodenkulturen beobachtet werden.

Wiederum bei anderen flüssigen Bodenkulturen mit relativ wenig Erde ein und desselben Bodens bei CS_2 -Zugabe und C-Nahrung in Form von Traubenzucker oder Pektinstoffen konnten üppige Algenvegetationen nur in den Kulturen mit K_3PO_4 , nicht aber in denen mit K_2HPO_4 und KH_2PO_4 beobachtet werden; in diesen Kulturen war meist nicht die geringste Algenvegetation zu sehen, wohl aber entwickelten sich neben anderen Organismen auffallend gut Schimmelpilze.

In flüssigen Bodenkulturen mit relativ geringen Impferdemengen ohne Kohlenhydratzugabe, aber mit Phosphaten, wurden ebenfalls nur in den Kulturen mit K_3HPO_4 gute Algenvegetationen beobachtet, während in denjenigen mit $\text{K}_1\text{H}_2\text{PO}_7$ und K_2HPO_4 bzw. ohne P_2O_5 keine augenscheinliche Algenentwicklung eingetreten war.

Im allgemeinen hat man es bei diesen Algenvegetationen vorwiegend mit Chroococcaceen, Nostococcaceen und Protococcaceen, Chlorella-Arten zu tun. Mit Algenreinkulturen sind noch keine näheren Versuche über die Beeinflussung ihrer Entwicklung durch CS_2 angestellt worden.

In Reinkulturen und Rohkulturen mit denitrifizierenden Organismen konnte schon durch niedrige CS_2 -Gaben eine nennenswerte Salpeterzerstörung verhindert werden.

Praktisch wichtig ist alsdann der Einfluß des CS_2 auf die Nitrifikation, welche nach Versuchen von Krüger und dem Verf. über CS_2 -behandelte Bracherden und nach speziellen quantitativen Bestimmungen des Salpeters zum mindesten bei einer derartigen Behandlung eine Zeit lang stark verzögert wird.

Durch Versuche im kleineren Maßstabe (Topfversuche) konnte Verf. weiterhin feststellen, bzw. frühere Versuche anderer Autoren bestätigen bzw. erweitern, daß die Nitrifikation durch CS_2 -Behandlung nur anfangs eine geradezu auffallende Verzögerung erleidet; späterhin setzt bei solchen Erden eine um so lebhaftere und stärkere Nitrifikation ein.

Besonders wichtig dürfte jedoch der CS_2 für die Entwicklung der sogenannten N-sammelnden Organismen und zwar vor allem für die sogenannten Azotobakterorganismen werden, indem dieselben bei Verwendung nicht allzu großer Mengen CS_2 unstreitig eine Förderung dadurch erfahren, daß ihre gedeihliche Entwicklung gewissermaßen gesichert wird.

Wie oben hervorgehoben wurde, machten schon die gemeinschaftlichen Untersuchungen von Krüger und dem Verf. unter besonderer Berücksichtigung und Bestimmung des Gesamtstickstoffs im Boden es mehr als wahrscheinlich, daß man bei Brachbearbeitung und gleichzeitiger Schwefelkohlenstoffbehandlung des Bodens

mit einer gesteigerten N-Assimilation¹⁾ durch niedere pflanzliche Organismen zu rechnen hat. Durch modifizierte direkte Versuche und Bestimmungen, welche noch nicht vollständig abgeschlossen sind, wird diese Wahrscheinlichkeit¹⁾ zu stützen gesucht und sie dürfte ohne Zweifel zur Gewißheit¹⁾ werden, nachdem vom Verf. zunächst weiterhin das regelmäßige und zahlreichere Vorkommen von Azotobakter in Bracherden festgestellt werden konnte; mit einem bloßen zahlreicheren Vorkommen irgend welcher Organismen ist natürlich leicht erklärlicherweise noch keineswegs eine verstärkte Wirkung derselben in bearbeiteten Brachböden gegenüber nicht gebrachten bzw. nicht bearbeiteten Brachböden erwiesen. Im übrigen deutet bei Kulturversuchen mit Pflanzen der verschiedensten Art in CS₂-behandeltem Boden alles auf eine N-Wirkung hin, wenn auch fürs erste nur auf eine Salpeterwirkung.

Ein auffallendes Ergebnis erhielt alsdann Verf., als er CS₂-behandelte Bracherde auf das Vorhandensein von Azotobakter einer vorläufigen Prüfung unterzog.

Wie aus der folgenden kleinen Tabelle ohne weiteres hervorgeht, wurde in dem für gewöhnlich zum Nachweis von Azotobakter bzw. zur Gewinnung einer Azotobaktervegetation benützten Kulturmedium (200 ccm H₂O, 2 g Zucker, 0,2 g K₂HPO₄, 25 g Erde) auch nicht einmal die Spur einer augenscheinlichen Vegetation von Azotobakter mit der CS₂-behandelten Bracherde als Impferde erhalten.

| Parzelle und Boden | Ein und dieselbe Erde (25 g Erde pro 200 ccm) Kulturen mit zweibas. Kaliumphosphat | | | | Bemerkungen |
|---|--|-----------|------------|-----------|--|
| | Kultur I | Kultur II | Kultur III | Kultur IV | |
| No. V. Brache bearbeitet | ++ | ++ | ++ | ++ | Erden mit mittlerem Feuchtigkeitsgehalte, nach mehrmaliger Bearbeitung und Behandlung im Spätsommer entnommen. (H ₂ O: ca. 10—12 Proz.) ++: starke } Azotobakter- 0: keine } vegetation in Form einer Art Kahmhaut und üppiger Schleimmassen. |
| No. X. Brache bearbeitet Kontroll-P. | ++ | ++ | ++ | ++ | |
| No. I. Brache bearbeitet u. mit CS ₂ behandelt | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| No. VII. Brache bearbeitet u. mit CS ₂ behandelt | 0 | 0 | 0 | 0 | |

Hieraus kann indessen nur geschlossen werden, daß Azotobakter in diesen Kulturen mit zweibasischem Kaliumphosphat (K₂HPO₄) und größeren CS₂-Impferdemengen nicht die Bedingungen zu seiner gedeihlichen Entwicklung vorfindet, nicht aber darf etwa daraus der

1) Anmerkung: Inzwischen konnte auch vom Verf. durch etwas umfangreichere in geeigneter Weise angestellte Freilandversuche (kleine Parzellen mit gleichmäßigem Boden mit und ohne N-Düngung, ohne und mit verschiedenen Phosphorsäuredüngungen, mit und ohne Brachbearbeitung etc.) gewissermaßen der mathematische Beweis erbracht werden, daß eine gesteigerte N-Zunahme (Gesamt-N) bei Brachbearbeitung auch schon durch eine gleichzeitige geeignete Phosphorsäuredüngung erzielt werden kann. Durch stärkere N-Düngung wird die N-Bindung gehemmt.

Schluß gezogen werden, daß Azotobakter in dieser CS_2 -Erde abgestorben oder auch nur schlecht entwicklungsfähig vorhanden ist.

Durch weitere direkte Versuche auf Grund des von Azotobakter reichlich gebildeten Glykogens und seines Nachweises mit Hilfe von Jodkalium u. s. w. (cf. hierzu B. Heinze, Ueber die Bildung und Wiederverarbeitung von Glykogen durch niedere pflanzliche Organismen. Bakt. Centralbl. Abt. II. Bd. XII. 1904. p. 43 u. ff., und Bd. XIV. 1905. No. 1), sowie durch modifizierte Kulturversuche konnte denn auch in der nämlichen CS_2 -Erde das Vorkommen lebensfähiger und gut entwicklungsfähiger Azotobakterorganismen nachgewiesen werden.

Ein Blick auf die beigegebene weitere Tabelle über Kulturen mit und ohne Zusatz verschiedener Phosphate läßt nun ohne weiteres erkennen, wie Azotobakter sich auch in den Kulturen mit CS_2 -Impferde gut entwickelte; weiterhin mag an dieser Stelle nur noch besonders hervorgehoben werden, daß eine Vegetation jedoch nur in den Kulturen mit Zusatz von K_3PO_4 eintritt und nochmals erwähnt werden, daß in den K_2HPO_4 -Kulturen wie oben bei den Vorversuchen nirgends eine Azotobakterkahmhaut entstanden war. Die Ursache des Ausbleibens der Azotobaktervegetation ist nun in den hier vorliegenden Fällen einmal lediglich in dem durch CS_2 -Impferde stark veränderten Nährsubstrat zu suchen, dann aber auch in dem zweifellos stark veränderten sogenannten physiologischen Zustande der N-sammelnden Organismen.

Freilich müssen zur Ergänzung dieser Befunde auch erst noch in geeigneter Weise umfangreichere Versuche mit Reinkulturen von Azotobakter¹⁾ angestellt werden, um die CS_2 -Wirkung auf diese Organismen nach jeder Richtung hin klarzulegen.

Regelmäßige Untersuchungen von Bracherden, welche verschiedene Male mit CS_2 behandelt worden waren, ergaben übrigens, daß in solchen Fällen Azotobakter immer noch gut entwicklungsfähig angetroffen wird.

Nach den neueren Untersuchungen auch des Verf. wird übrigens Azotobakter in allen Bodenarten, selbst in jungfräulicher Schwarzerde, im Wiesen-, Wald- und Sandboden mehr oder weniger zahlreich angetroffen; bei der Verfärbung des Bodens spielen diese Organismen zweifellos eine nicht unwichtige Rolle, was durch feste besondere Bodenkulturen derselben (mit Sand-, Kalk-, Gipszusatz) bewiesen werden kann. Die Bodenkulturen, in denen eine reichliche Azotobaktervegetation sich entwickeln kann, sind ganz auffallend dunkler gefärbt gegenüber den Parallelkulturen, bei welchen die erforderlichen günstigen Bedingungen nicht gegeben sind. Bei Vorhandensein genügender Mengen von C-Verbindungen ist ein zeitweises Verschleimen, Schmierens der-

1) Anmerkung: Neuere Versuche des Verf. mit Reinkulturen von Azotobakter machen es übrigens mehr als wahrscheinlich, daß man diese mehr oder weniger farblosen Parallelförmigen zu gewissen Cyanophyceen (als welche sie bekanntlich von verschiedener Seite angesprochen werden) durch geeignete sogenannte Passagekulturen ganz bequem zum Ergrünen bringen kann. Nach diesen Befunden würden alsdann die sogenannten Azotobakterorganismen tatsächlich nur mehr oder weniger farblose Parallelförmigen von blaugrünen Algen vorstellen: Sie würden demnach unter den niederen pflanzlichen Organismen tatsächlich in nächste Nähe der Cyanophyceen zu stellen sein. Nach den bisherigen Beobachtungen spielen hierbei neben geeigneten Phosphaten vor allem auch gewisse organische N-Verbindungen eine nicht unwichtige Rolle. Im übrigen konnten derartige Beobachtungen nicht nur in sorgfältig sterilisierten Kulturmedien mit Zusatz von Boden, sondern auch in solchen ohne besonderen Bodenzusatz gemacht werden.

Azotobakterkulturen mit verschiedenen Bracherden.

| Art und Behandlung des Bodens | Kulturen No. | Wassergehalt der Impferde | Zustand der zu den einzelnen Kulturen verwandten Erde | Kulturen mit und ohne P ₂ O ₅ -Gabe | | | | | Sonstige Bemerkungen |
|--|--------------|---------------------------|--|---|---|--|---|--|---|
| | | | | Ohne Phosphate | + KH ₂ PO ₄ (einbasisches Kaliumphosphat) | + K ₂ HPO ₄ (zweibasisches Kaliumphosphat) | + K ₃ PO ₄ (dreibasisches Kaliumphosphat) | + KH ₂ PO ₄ + K ₂ HPO ₄ + K ₃ PO ₄ | |
| XI. Bracherde: (Lauchstädter Lößlehm) Parzelle nicht bearbeitet; ohne CS ₂ -Behandlung | I, 1 | 12 Proz. | Frischerden Proben entnommen entsprechend den anderen Proben vor der ersten und nach der ersten, zweiten und dritten Bearbeitung bzw. Behandlung etc. Nasse Erde im Spätherbst Frosterde, wieder aufgetaut Lufttrockene Erde Ausgewaschene, längere Zeit getrocknete, an der Luft auf dem Filter liegen gebliebene, sehr hartgewordene Erde | 0 | 0 | + | + | + | Soweit üppige Azotobaktervegetationen in Form von Kahmhäuten zu beobachten waren, war auch reichliche Schleimbildung und spätere braunrote bis schwarze Verfärbung der Kulturen eingetreten |
| | I, 2 | 12 " | | 0 | 0 | + | + | + | |
| | I, 3 | 10 " | | 0 | 0 | ++ | ++ | +++ | |
| | I, 4 | 8 " | | 0 | 0 | ++ | ++ | +++ | |
| | I, 5 | 16 " | | 0 | 0 | + | + | + | |
| | I, 6 | 19,5 " | | 0 | 0 | +? | +? | +? | |
| | a, 1 | 3 " | | 0 | 0 | ++ | ++ | +++ | |
| | b, 1 | 0,5 " | | 0 | 0 | ++ | ++ | +++ | |
| V. Bracherde: (Lauchstädt) Parzelle bearbeitet ohne CS ₂ -Behandlung | II, 1 | 12 Proz. | Frischerden Vor d. 1. Bearbeitg. Nach " 1. " " " 2. " " " 3. " Ziemlich nasse Erde im Spätherbst entnommen Sehr nasse, gefrorene und wieder aufgetaute Erde Lufttrockene Bracherde Ausgewaschene, längere Zeit getrocknete und an der Luft auf dem Filter liegen gebliebene, sehr hart gewordene Erde | 0 | 0 | + | + | + | Meistens starke Schleimbildung und Verfärbung der Kulturen |
| | II, 2 | 12 " | | 0 | 0 | ++ | ++ | +++ | |
| | II, 3 | 10,5 " | | 0 | 0 | +++ | +++ | +++ | |
| | II, 4 | 8,5 " | | 0 | 0 | +++ | +++ | +++ | |
| | II, 5 | 16 " | | 0 | 0 | + | + | + | |
| | II, 6 | 19,5 " | | 0 | 0 | +? | +? | +? | |
| | a, 2 | 3 " | | 0 | 0 | ++ | ++ | +++ | |
| | b, 3 | 0,5 " | | 0 | 0 | ++ | ++ | +++ | |
| VII. Bracherde: (Lauchstädt) Parzelle bearbeitet mit CS ₂ behandelt | III, 1 | 12 Proz. | Frischerden Vor d. 1. Behandlg. Nach " 1. " " " 2. " " " 3. " Ziemlich nasse, im Spätherbst entnommene Erde Sehr nasse, gefrorene und wieder aufgetaute Erde Lufttrockene mit CS ₂ behandelte Bracherde Ausgewaschene, längere Zeit getrocknete und an der Luft auf dem Filter liegen gebliebene, sehr hart gewordene Erde | 0 | 0 | + | + | + | Im allgemeinen auch stärkere Schleimbildung und dunkle Verfärbung der Azotobaktervegetationen |
| | III, 2 | 12 " | | 0 | 0 | 0 | +++ | +++ | |
| | III, 3 | 10,5 " | | 0 | 0 | 0 | +++ | +++ | |
| | III, 4 | 9,5 " | | 0 | 0 | 0 | +++ | +++ | |
| | III, 5 | 16 " | | 0 | 0 | 0 | + | + | |
| | III, 6 | 19,5 " | | 0 | 0 | 0 | +? | +? | |
| | a, 3 | 3,5 " | | 0 | 0 | 0 | ++ | ++ | |
| | b, 3 | 0,5 " | | 0 | 0 | +? | ++ | ++ | |

Erklärungen der Zeichen:

0 { keinerlei augenscheinliche und mikroskopisch festzustellende Azotobakter-V. }
 + { mit dem bloßen Auge zweifelhaft festzustellende, mikroskopisch schwache Azotobakter-V. }
 ++: starke
 +++: sehr starke
 Azotobaktervegetation in Form einer üppig entwickelten Leimhaut.

jenigen Böden nicht zu verkennen, welche bei normalem, immerhin aber ziemlich reichlichem Wassergehalte eine geeignete Phosphorsäuredüngung erhalten haben: Es ist dies im allgemeinen zugleich ein Kriterium dafür, daß Azotobakter sich üppig in solchen Bodenkulturen entwickelt hat.

Weiterhin muß besonders hervorgehoben werden, daß in gewöhnlichen flüssigen Traubenzuckererkulturen, welche mit 0,1 Proz. K_2HPO_4 bzw. K_3PO_4 angesetzt wurden, durch eine kleine Schwefelkohlenstoffgabe beim Ansetzen der Kulturen das Auftreten einer guten Azotobaktervegetation (in Form einer üppig entwickelten Kahmhaut) gewissermaßen gesichert werden kann, indem die sonst oftmals zu lebhaft einsetzende Säuregärung, sowie die trotz reichlichen Kalkgehaltes der Kultur vielfach zu starke freie Säurebildung auf ein Minimum beschränkt, wenn nicht unter Umständen so gut wie vollständig unterdrückt werden kann.

Schließlich wurde im Anschluß an Azotobaktervegetationsversuche in flüssigen Bodenkulturen, bei denen als Kohlenstoffnahrung u. a. Samen, Blätter, Stengel, Wurzeln, Knollen von Kartoffeln, Blätter-, Stengel-, Wurzelwerk von Leguminosen, Blätter-, Stengel-, Rübenmaterial von Zuckerrüben — sterilisiert und in frischem Zustande — gegeben wurde, vom Verf. festgestellt, daß man in ähnlichen Bodenkulturen unter gleichzeitiger Phosphatdüngung auch mit dem Blätter-, Stengel-, Wurzelwerk von Raps und Senf als C-Nahrung ganz bequem leidlich gute Azotobaktervegetationen erhalten kann, indem in solchen Kulturen keinerlei auffallende Säuregärung voraufgeht, und demnach die löslichen oder in Lösung übergehenden (in dem erwähnten Pflanzenmaterial enthaltenen Kohlenhydrate bzw. kohlenhydratartigen Substanzen) vorwiegend zu einer gedeihlichen Entwicklung von Azotobakter zur Verfügung stehen bleiben, da ja eine gedeihliche Entwicklung wahrscheinlich gerade durch die in dem zugeführten Pflanzenmaterial vorhandenen CS_2 -Derivate (senföartige Substanzen?) eine gewisse Sicherung erfährt. Störend dürften allerdings bei den bisherigen Versuchen die gleichzeitig mit der unverrotteten Pflanzensubstanz in etwas reichlicherer Menge gegebenen N-Mengen wirken.

Auch in flüssigen Bodenkulturen mit Traubenzucker als C-Nahrung, konnte man schon mit geringen Mengen von Senfpflanzensubstanz eine gewisse Sicherung der Azotobaktervegetation dadurch erzielen, daß durch die zugegebene Pflanzensubstanz die Säuregärung der Clostridien- und Granuloseorganismen fast ganz unterdrückt werden konnte. Wie schon oben hervorgehoben wurde, so waren allerdings auch hier die Vegetationen von Azotobakter durchweg nicht so gut wie bei den entsprechenden Zuckerkulturen ohne Pflanzensubstanz; indessen wird man vielleicht zu besseren Ergebnissen gelangen, wenn man die Pflanzensubstanzen in geeigneter Weise erst teilweise verrotten läßt. Besondere Versuche müssen auch erst noch mit Reinkulturen von Azotobakter angestellt werden, um auch die Wirkung der neben den kohlenhydratartigen Stoffen vorhandenen anderen Pflanzensubstanzen genauer beurteilen zu können.

Ebenso ist es zur Beurteilung von Senfpflanzenmaterial u. s. w. auf die Entwicklung von Azotobakter (bzw. der Bodenorganismenflora überhaupt) unbedingt erforderlich, auch noch weitergehend modifizierte Versuche mit Thiokarbonaten, Thioharnstoffen, thiocyan-sauren- und thiokarbaminsauren Salzen und besonders mit Senfölen heranzuziehen, um so im Anschluß an den CS_2 die Einwirkung dieser

Substanzen auf die verschiedensten Organismen in mehr und mehr befriedigender Weise klarzulegen.

IV. Ueber die Bedeutung des Schwefelkohlenstoffes (und Derivate desselben) für die Fruchtbarkeit des Bodens.

Nach den vorstehenden Erörterungen wird ohne Zweifel durch den Schwefelkohlenstoff und verschiedene von ihm sich ableitende Verbindungen die Organismenflora des Bodens in gar verschiedener Weise beeinflusst: die einen Organismen werden mehr oder minder stark in ihrer Entwicklung geschädigt, andere Organismen wiederum werden außerordentlich gefördert; manche erleiden nur anfangs bei einer CS_2 -Behandlung eine auffallende Schädigung und können sich späterhin in CS_2 -behandelter Erde um so freudiger entwickeln; infolgedessen muß der Einfluß dieser Stoffe weiterhin auf die gesamten Nährstoffumsetzungen im Boden, sowie auf das Pflanzenwachstum, also überhaupt auf die Fruchtbarkeit eines Bodens, ebenfalls von nicht zu unterschätzender Bedeutung sein. Eine allgemeine Beurteilung und vor allem auch eine einigermaßen vollständig und allgemein befriedigende Erklärung der Wirkung des CS_2 u. s. w. auf den Boden läßt sich naturgemäß nach den bisherigen Erfahrungen noch nicht geben, immerhin sind jedoch nach den obigen Mitteilungen schon gar manche wichtigen Anhaltspunkte zur Erklärung der CS_2 -Wirkung gewonnen worden.

Die ertragsteigernde Wirkung des CS_2 steht nach mannigfachen Versuchen unstreitig fest, nachdem zuerst Oberlin auf die bei der Reblausbekämpfung mit CS_2 gemachten günstigen Erfahrungen hin auf die gleichzeitige das Pflanzenwachstum fördernde Wirkung des CS_2 im Boden aufmerksam gemacht hatte und dieses Mittel in die Praxis des Weinbaues zur gleichzeitigen Bekämpfung der sogenannten Bodenmüdigkeit der Reben einführte.

Es ist bekannt, daß eine CS_2 -Gabe fürs erste die Fruchtbarkeit eines Bodens ziemlich stark beeinträchtigt, daß jedoch relativ kurze Zeit nach Einbringung desselben der Boden vielfach eine sehr beträchtliche Erhöhung seiner Fruchtbarkeit zeigt.

Viele spätere Beobachtungen beweisen, daß durch eine CS_2 -Düngung die Rebenmüdigkeit, wie im allgemeinen alle Bodenmüdigkeitserscheinungen aufgehoben werden können. Weiterhin hat man bei allen möglichen Pflanzen zum Teil überaus beträchtliche Mehrerträge bei CS_2 -Düngung erzielt.

So konnten neuerdings Krüger und der Verf. auffallende Mehrerträge an Roggen (sowohl was Stroh, als auch besonders was die Körner anbelangt) auf CS_2 -Parzellen im Vergleich zu unbehandelten erhalten.

Auf einem CS_2 -behandelten Boden betrug nach Feststellungen von Moritz und Scherpe die Kartoffelernte 190 Teile Knollen, wenn der Ertrag der unbehandelt gebliebenen, aber sonst gleichartigen Parzelle gleich 100 gesetzt wurde.

A. Koch berichtet zunächst über einige Topfversuche von Buchweizen in sterilisiertem Boden mit und ohne CS_2 -Behandlung.

Danach wurden

| | | | | | |
|---------|---|--------|-----------------|----------------|---------|
| in Topf | 1 | — mit | CS ₂ | — am 14. Aug.: | 294 g |
| " " | 4 | — ohne | CS ₂ | — " 14. " | 162 " |
| " " | 3 | — mit | CS ₂ | — " 27. " | 175,5 " |
| " " | 2 | — ohne | CS ₂ | — " 27. " | 158,5 " |

frische, oberirdische Pflanzenmasse geerntet.

Weiterhin berichtet A. Koch über Versuche mit Senf und Buchweizen in nicht sterilisiertem Boden, aber mit verschiedenen großen CS₂-Gaben.

Er erhielt folgende Ergebnisse als Mittel aus je drei gleichbehandelten Töpfen:

| Schwefelkohlenstoffgabe auf den Topf, angegeben in ccm | Ernte an Pflanzenmasse | | Bemerkungen |
|--|---------------------------|---------------------------------|---|
| | Senf angegeben in g | Buchweizen angegeben in g | |
| ohne CS ₂ : | 13,25 | 36 | Unter dem Erntegewicht ist das Frischgewicht der oberirdischen Pflanzen- masse zu verstehen. |
| 25 " | 14,92 | 78 | |
| 60 " | 21,83 | 94 | |
| 100 " | 18,68 | 93 | |
| 200 " | 37,58 | 99 | |
| 300 " | 22,30 | 90 | |

Nach der vorstehenden Uebersicht steigt der Ertrag zwar nicht im gleichen Verhältnis wie die CS₂-Gabe; er nimmt aber im geraden Verhältnis mit derselben nicht unerheblich zu.

Aehnliches geht aus zwei Versuchsreihen von Caron mit Mais in gesundem Boden und von Behrens mit Zwiebeln in sogenannten zwiebelmüdem Boden hervor, welche zugleich in einem gewissen Gegensatz zu den eben erwähnten Kochschen Versuchen das praktische Interesse bieten, daß dieselben im freien Lande unter mehr natürlichen Verhältnissen angestellt worden sind, als es bei Topfversuchen überhaupt möglich ist (nach Koch).

I. Erntezahlen von Zwiebeln in müdem Boden (nach Behrens).

| Teilstück No. | Schwefel- kohlenstoff- gabe pro 1 qm ccm | Ernte in kg | Bemerkungen |
|------------------|---|-------------------|--|
| 1 | 0 | 14 | Durch mehrjährigen Zwiebelanbau: Boden, zwiebel- müde geworden. Teilstücke: 10 qm groß; Boden im November mit CS ₂ behandelt und im Früh- jahr bestellt. |
| 2 | 400 | 22 | |
| 3 | 800 | 22 | |
| 4 | 1200 | 26 | |

(Siehe Tabelle [II.] p. 346.)

Die vorstehenden Versuche ergeben also beide eine zum Teil sehr auffallende Steigerung im Ertrage bei CS₂-Düngung.

Gleichzeitig zeigt der letztere Versuch, was bei weiteren Versuchen von Koch mit Reben in gesundem, mit CS₂ behandeltem Boden nur in einem Falle hervortrat, daß der CS₂ auch in einem Boden wirkt, welcher für die betreffende Versuchspflanze keineswegs müde ist.

Bei Versuchen in großem Maßstabe in gesunden Böden konnten alsdann von Girard viel größere Mehrerträge an Getreide, Zucker-

II. Erntezahlen von Mais in gesundem Boden (nach Caron).

| Teilstück No.? | Schwefel- kohlenstoff- gabe pro 1 qm g | Ernte in g | Bemerkungen |
|-------------------|---|------------------|--|
| 1 | 0 | 4050 | Die Teilstücke waren je 1 qm groß; der Boden wurde am 19. April mit CS ₂ behandelt, am 6. Mai bestellt und 19. Aug. die grüne Pflanzenmasse geerntet und gewogen. Caron bemerkt zu den Versuchen selbst, daß das verwendete Land offenbar in der Richtung von Teilstück 12 zu 1 besser wird. Bei einem Vergleiche der Nachbarstücke kann man also sehr wohl eine Steigerung des Ertrages durch CS ₂ beobachten. |
| 2 | 200 | 5400 | |
| 3 | 0 | 4100 | |
| 4 | 0 | 4500 | |
| 5 | 0 | 3300 | |
| 6 | 300 | 4300 | |
| 7 | 100 | 3300 | |
| 8 | 0 | 3300 | |
| 9 | 0 | 3300 | |
| 10 | 0 | 2800 | |
| 11 | 300 | 3600 | |
| 12 | 100 | 3400 | |

rüben, Kartoffeln und Klee erhalten werden, wenn die betreffenden Böden mit 33 kg CS₂ pro ar behandelt wurden.

Er erhielt alsdann Mehrerträge bis zu 119 Proz.

Weitere Versuche A. Kochs mit Senfpflanzen in Sand mit Nährsalzlösungen ergaben folgendes Resultat:

| In 4 Töpfen von 18 cm Durchmesser | Länge der einzelnen Pflanze im Mittel cm | Frisch- gewicht im Mittel g | Bemerkungen |
|---|---|--------------------------------------|---|
| ohne CS ₂ | 47,62 | 8,62 | Jede Versuchsgruppe umfaßte 4 Töpfe zu je vier Pflanzen. |
| mit 200 ccm pro Topf | 56,66 | 9,96 | Die Zahlen sind als Mittel für die einzelnen Pflanzen zu verstehen. |

Nach diesen Versuchen steigert also der CS₂ auch das Pflanzenwachstum, selbst wenn der Pflanze nach Koch alle Nährstoffe in löslicher Form zur Verfügung stehen. Da von Koch keine Versuche mit wechselnden Mengen von Nährsalzen angestellt worden sind, so dürfte nach Ansicht des Ref. dessen Schluß auf alle Fälle verfrüht sein, wenn er schreibt, daß also der CS₂ nicht durch Aufschließung (bezw. weitere Nutzbarmachung) von Bodennährstoffen wirken könne. Koch berücksichtigt hierbei auch nicht eine immerhin mögliche Assimilation des freien N der Luft in den vorliegenden Kulturversuchen und zwar eine eventuell auffallend bessere in den CS₂-Böden.

Nicht unerwähnt mögen auch besondere Untersuchungen von Koch bleiben, nach denen durch CS₂-Behandlung bei Reben eine Erhöhung des Mostgewichtes der Trauben, und dementsprechend ihres Zuckergehaltes und eine Verminderung ihres Säuregehaltes zur Folge gehabt hat, nach denen also mithin eine vollkommenerer Ausreifung der Trauben und damit ein stärkerer Verbrauch der Säure zu beobachten war, wie ein Blick auf die folgenden Zahlen

| Teilstück No. | Schwefel- kohlenstoff auf den Stock g | Most- gewicht nach Oechsle | Säure Proz. | Zucker pro 100 ccm g | Bemerkungen |
|------------------|--|-------------------------------------|----------------|-------------------------------|--|
| 1 | 0 | 97,6 | 5,77 | 21,605 | 4 Teilstücke von je 3 Zeilen. No. 1 blieb unbehandelt. No. 2—4 a. 25. Mai zum erstenmal mit 25 g; No. 3 u. 4 am 22. Juni zum zweitenmal mit 25 g; No. 4 am 10. Okt. zum drittenmal mit 25 g CS ₂ behandelt. |
| 2 | 25 | 108,6 | 4,50 | 25,120 | |
| 3 | 50 | 102,1 | 5,10 | 23,031 | |
| 4 | 75 | 111,1 | 3,67 | 25,554 | |

ohne weiteres zeigt. Nach diesen Ergebnissen scheint tatsächlich unter Umständen auch im stehenden Weinberge die Anwendung des CS_2 einen praktischen Erfolg zu haben.

Ganz ausgezeichnet wird schließlich noch die Wirkung des CS_2 durch einige Versuche Kochs im freien Weinberge illustriert.

I. Weinberg nach 3-jähriger Brache mit 2-jährigen Wurzelreben (nach Koch).

| Böden (Bracherde) | Frischgewicht des abgeschnittenen | | Bemerkungen Setzung der Reben 1896 |
|---|-----------------------------------|------------------------------|--|
| | Laubes pro 100 Stöcke | Holzes pro 100 Stöcke | |
| nicht behandelt | 14,0 kg 7,5 " | 4,900 kg (12. Febr. 1898) | am 1. Sept. 1897 „ 11. Aug. 1898 |
| behandelt mit 300 g CS_2 pro 1 qm | 33,6 " 16,0 " | 8,350 kg (12. Febr. 1898) | „ 1. Sept. 1897 „ 11. Aug. 1898 |

II. Weinberg nach 3-jährigem Liegen in Klee mit Wurzelreben bepflanzt (nach Koch).

| Frischgewicht des Laubes bzw. Holzes | Boden nicht behandelt | Boden behandelt mit 574 g CS_2 , 1895 | Bemerkungen |
|---|--------------------------|---|---------------|
| Laub von 330 Stöcken | 61,750 kg | 67,750 kg | im Jahre 1898 |
| Holz „ 374 „ | 77,000 „ | 95,650 „ | „ „ 1898 |

III. Lückig gewordener Weinberg mit 2-jährigen Sylvaner Wurzelreben ausgeflückt — sogenannten Stufen — (nach Koch).

| Stufen im Jahre 1895 gepflanzt | | Bemerkungen |
|---------------------------------------|--|--|
| Stufen nicht behandelt | Reben, viel schwächer entwickelt, zeigten noch keine Trauben (1898) | Solche Stufen wachsen im allgemeinen schwer an |
| Stufen behandelt mit CS_2 | Reben, gut entwickelt, standen schon in vollem Ertrage (1898) | Die einzelnen Stellen mit 143 g bis 584 g CS_2 behandelt |

Auch konnten noch weitere günstige Erfolge mit CS_2 -Behandlung wahrgenommen werden. Selbst gelbsüchtige Weinberge konnten nach Koch zu einem besseren Austrieb angeregt werden.

Wie auch Koch selbst schreibt, können natürlich alle die bisherigen Versuche noch nicht die Hauptfrage entscheiden, ob der Schwefelkohlenstoff ein spezifisches Mittel gegen die Rebenmüdigkeit ist, oder ob man mit Hilfe desselben die Brachzeit abzukürzen vermag, ohne die Weinbergsdauer zu beeinträchtigen. Das ist wohl schließlich erst nach Jahrzehnten möglich. Unter Umständen wird also der CS_2 trotz seines hohen Preises und seiner umständlichen Anwendung ein wertvolles Hilfsmittel für den Weinbau bleiben. Auch werden wohl in gar manchen Fällen die Kosten der CS_2 -Behandlung selbst dann gedeckt werden können, wenn es nach den obigen Versuchen wahrscheinlich wird, einen Weinberg nach Neuanlage bei Behandlung mit CS_2 früher in vollen Ertrag zu bringen als sonst; endlich hat auch nach A. Koch die oben angeführte Behandlung alter Weinberge mit CS_2 für Gegenden mit Qualitätsbau Aussicht auf besondere Bedeutung, weil gerade alte Weinberge bekanntlich viel feinere Weine liefern als junge. Bei sogenannten erbsenmüden Böden wurde, von Hiltner und Störmer, wenigstens nach den bisherigen diesbezüglichen Versuchen, eher eine schädigende Ein-



wirkung des CS_2 als eine günstige Wirkung auf den betreffenden Boden beobachtet, wenn wiederum Erbsen gebaut wurden, was allerdings nicht ausschließt, daß man bei weiteren modifizierten Versuchen auch hier zu günstigeren Ergebnissen wird gelangen können. Wurde Buchweizen in erbsenmüden CS_2 -behandelten Boden gesät, so war der Ertrag des behandelten Bodens gegenüber dem unbehandelt gebliebenen fast um 100 Proz. höher. Nach Hiltner und Störmer dürften übrigens die spezifische Wurzelflora der verschiedenen Pflanzen in ganz ähnlicher Weise durch den CS_2 beeinflußt werden, wie die eigentliche Bodenorganismenflora.

Muß nun also nach den gemachten Mitteilungen die CS_2 -Behandlung des Bodens in ihrer Gesamtwirkung ohne Zweifel als eine günstige, entschieden bodenverbessernde Maßnahme angesehen werden, so sind die Einzelwirkungen einer solchen Behandlung noch lange nicht so geklärt, als es zu einem unter allen Umständen sicheren Erfolg notwendig wäre, trotz der bereits gewonnenen verschiedenen überaus wichtigen Anhaltspunkte.

Wie schon Hiltner und Störmer schreiben, hat Ritter gelegentlich einer zusammenfassenden Besprechung eine recht klare Uebersicht über alle jene Prozesse gegeben, aus deren Einzelwirkungen die Gesamtwirkung einer CS_2 -Behandlung des Bodens erklärt werden kann.

Danach ist man allerdings sehr berechtigt, a priori an Vorgänge, wie beispielsweise katalytische Wirkung, Reizwirkung des CS_2 , an seine Giftwirkung auf die Tiere des Bodens, an die von ihm hervorgerufenen chemischen Umsetzungen, zu denken und deren Tragweite experimentell zu prüfen, aber neben den genannten Forschern schien es gar manchem anderen, als müsse die Lösung des Rätsels auf dem Gebiete der Mykologie gesucht werden, zumal obendrein schon die von Oberlin nachgewiesene Tatsache, daß die Bodenmüdigkeit der Reben durch CS_2 erfolgreich bekämpft werden kann, zu dieser Ansicht drängt.

Unter Berücksichtigung der oben etwas ausführlicher dargelegten Ergebnisse über die Bedeutung des CS_2 für die Organismenflora des Bodens mögen nunmehr die wichtigsten Punkte und Anschauungen einzelnen Forscher nochmals kurz wiedergegeben bzw. skizziert werden, soweit sie geeignet erscheinen, die Wirkung des CS_2 im Boden selbst zu erklären.

A. Koch, welcher sich bisher allerdings vorwiegend nur mit dem CS_2 in seiner Beziehung zur Rebenmüdigkeit als besonderen Fall der Bodenmüdigkeit befaßt hat, sieht den günstigen Einfluß desselben auf den Boden nach den gemachten Erörterungen lediglich in einer direkten Wirkung auf die Pflanzen, einer sogenannten Reizwirkung mit der Einschränkung, daß auch Derivate des CS_2 , z. B. nichtflüchtige Verbindungen desselben, mit den Bodenbestandteilen oder dergleichen, und nicht der CS_2 selbst möglicherweise die in Rede stehende Erscheinung hervorrufen.

Wollny hält die bisherigen Versuche zur Erklärung der CS_2 -Wirkung samt und sonders nicht für genügend stichhaltig, insbesondere nicht die Kochschen Versuche, bei denen er aber wohl eine etwas zu abweisende Kritik üben dürfte.

Im übrigen findet Wollny, daß sich aus allen von anderen und ihm selbst ermittelten Tatsachen folgende Schlüsse ziehen lassen:

1) Die Einführung des CS_2 in das Ackerland während der Vegetationszeit hat je nach der angewandten Menge

entweder eine vollständige Vernichtung des Pflanzenlebens oder eine vorübergehende Störung desselben, verbunden mit einer mehr oder minder großen Depression der Produktion pflanzlicher Substanz, zur Folge.

2) Bei Anwendung des CS_2 , einige Monate vor dem Anbau wird die Fruchtbarkeit des Bodens in einem meist beträchtlichen Grade gesteigert. Diese Wirkung erstreckt sich je nach der Menge der dem Erdreich zugeführten CS_2 auf eine oder mehrere Vegetationsperioden, worauf, wenn keine Düngung stattfand, ein bedeutender Rückgang der Erträge auf den imprägnierten Feldern in die Erscheinung tritt.

3) Die bei der Zersetzung der organischen Stoffe und bei der Salpeterbildung in der Ackererde beteiligten niederen Organismen, sowie die Knöllchenbakterien der Leguminosen werden selbst bei Benutzung sehr großer Mengen von CS_2 nicht getötet, sondern nur in ihrer Tätigkeit zeitweise gehemmt, um dann später ihre Funktionen wieder vollständig aufzunehmen.⁴

Bei der Zusammenfassung ihrer bisherigen Resultate, soweit dieselben für die Frage nach der Erklärung der CS_2 -Wirkung wichtig sind, kommen alsdann Hiltner und Störmer zu folgenden Schlußfolgerungen:

1) Indem der CS_2 , das in dem Ackerboden bestehende Gleichgewicht der Organismenflora gründlich zerstört, öffnet er die Bahnen zu einer völlig neuen Entwicklung der Organismen. Diese letzteren werden nämlich nicht völlig vernichtet, sondern nur vorübergehend stark geschädigt. Die Schädigung ist bei den verschiedenen Gruppen bzw. Arten eine verschieden starke. Dieser Umstand hat zur Folge, daß einzelne Arten eine besonders üppige Entwicklung nehmen können und andere Arten zurückgedrängt werden.

2) Die starke Vermehrung der Bakterien wird starke Umsetzungen von Nährstoffen zur Folge haben. Durch Aufschließung oder durch Stickstoffsammlung werden hierdurch beträchtliche Mengen von leichter zugänglichem Stickstoff flüssig, der den Pflanzen zu gute kommt. Die Wirkung des CS_2 trägt den Charakter einer Stickstoffwirkung.

3) Die anfängliche Zurückdrängung der nitrifizierenden Arten (wofür allerdings die Verff. keine eigenen direkten Beweise erbringen — d. Ref.) wird zu einem Vorteil, weil dadurch in einer Zeit, in welcher die üppige Entwicklung anderer Arten zweifellos beträchtliche Mengen von Bodenstickstoff flüssig macht, ein Pflanzenwachstum dagegen nicht möglich ist, die Nitrifikation dieses Stickstoffes und daher seine Wegführung durch das Tagewasser verhindert wird.

4) Die dauernde Zurückdrängung der denitrifizierenden Bakterien ist als ein weiteres Moment, durch welches das Pflanzenwachstum begünstigt wird, aufzufassen.

Die ausführlicheren Ausführungen und Anschauungen von Hiltner und Störmer über die CS_2 -Wirkung im Ackerboden, welche in dem Nachweise gipfeln, daß der CS_2 die Organismenwelt des Bodens in stärkster Weise beeinflußt, stehen und fallen auch nach der eigenen Meinung dieser Forscher mit der wahrscheinlich unanfechtbaren Tatsache, daß die CS_2 -Wirkung eine Stickstoffwirkung ist. Freilich

bringen die genannten Autoren noch keine eigenen zwingenden Beweise für diese Annahme, insbesondere auch keinerlei analytische Daten.

Indessen „wer einmal verfolgen konnte, wie nach Ablauf des Inkubationsstadiums geimpfter Leguminosenpflanzen der gesamte Organismus die nunmehr einsetzende Stickstoffsammlung durch eine an der Spitze der Blätter beginnende, fast von Stunde zu Stunde fortschreitende Ergrünung anzeigt, und wer damit seinen Blick für die Stickstoffwirkung geschärft hat, kann nicht die so deutliche bessere Stickstoffernährung der in mit CS_2 behandelter Erde wachsenden Pflanzen verkennen“.

Alles kommt jedoch nun weiterhin bei der Beurteilung der Schwefelkohlenstofffrage darauf an, diese Stickstoffwirkung näher zu erklären bzw. zu erweisen.

Hiltner und Störmer äußern sich in dieser Hinsicht recht ausführlich und beurteilen die vorliegende Frage, wie folgt:

„Die Einbringung des Giftes in den Boden dezimiert zunächst die Organismenflora desselben, gibt aber damit gleichzeitig den Anstoß zu einer nach dem Verschwinden des schädlichen CS_2 -Gases eintretenden sehr starken und anhaltenden Vermehrung der Organismen. In derselben erblicken wir die Ursache, durch welche der leichter lösliche N-Vorrat des Bodens vermehrt wird. Es muß dahingestellt bleiben, ob diese Vermehrung hauptsächlich der Sammlung des freien Stickstoffes der Luft oder der Aufschließung des riesigen Bodenkapitals an gebundenem Stickstoff zuzuschreiben ist. Das Wahrscheinlichste ist wohl, daß wenn auch der eine Prozeß vorherrscht, der andere sicherlich ebenfalls lebhafter als in normaler Ackererde vor sich geht. Dieser so gewonnene N ist an sich nicht sofort den Pflanzen zugänglich, sondern zunächst noch in den Bakterienleibern festgelegt. Mit dieser Annahme dürfte sich am besten die Tatsache erklären, daß auch noch einige Zeit nach der Eingabe des CS_2 in dem Boden angebaute Pflanzen eher eine Schädigung als eine Förderung ihres Wachstums erkennen lassen; denn die bisher angenommene Erklärung, daß solche Schädigungen noch durch eine direkte Wirkung des Giftes auf die Pflanzen veranlaßt werden, dürfte wohl nach der Erkenntnis, daß während der gleichen Zeit die mächtigsten Bakterienbewegungen stattfinden, kaum noch aufrecht erhalten werden können. Mit fortschreitender Zeit wird der in den Bakterienleibern festgelegte Stickstoff durch Zersetzungsprozesse beweglich gemacht und damit der Nitrifikation und den Pflanzen zugänglich werden. Zumal wenn der CS_2 im Spätherbst in den Boden gebracht wird, ist bis zum Anbau der folgenden Sommerfrucht reichlich Zeit zur Mineralisierung des Bakterienstickstoffs gegeben.

Es ist wohl leicht verständlich, daß dieser in den Bakteriengenerationen festgelegte Stickstoff nicht bereits schon in einem Jahre, sondern erst in mehreren Vegetationsperioden flüssig gemacht wird, so daß sich hieraus die nach einer starken CS_2 -Düngung 2 und mehr Jahre hintereinander zu bemerkende Ernteerhöhung zwanglos erklärt, obgleich die Bakterienbewegungen zu dieser Zeit längst abgeklungen sind. Die nach mehr oder weniger langer Zeit aber doch eintretende Erschöpfung des Bodens erklärt sich endlich durch die tiefgreifenden Veränderungen der Bodenflora, die nicht ohne weiteres in ihre natürliche Zusammensetzung zurückkehrt. Vielleicht kann dies nur deshalb nicht geschehen, weil die irgendwie zugänglichen Nährstoffe des Bodens für Jahre hinaus erschöpft sind“.

Wie sich Verf. auf Grund der vorläufigen eigenen Beobachtungen und Untersuchungen über die Bedeutung des CS_2 für den Boden und die Pflanzen den diesbezüglichen Ansichten von Hiltner und Störmer im allgemeinen wenigstens vollständig anschließen kann, so muß er besonders deren Ausführungen beipflichten, daß die CS_2 -Wirkung in der Hauptsache nichts anderes als eine Stickstoffwirkung ist.

Schon von vornherein läßt die CS_2 -Wirkung ganz ohne Zweifel diejenigen Merkmale erkennen, welche für die Wirkung einer N-Düngung so überaus charakteristisch sind, wofür besonders deutlich das dunkle Grün und eine üppigere Entwicklung der Pflanzen spricht; späterhin kommt u. a. besonders die große Neigung des Getreides zum Lagern hinzu, gleich als ob allzu reichliche N-Mengen zur Verfügung stehen. Auf alle Fälle dürfte in einer enormen Vermehrung verschiedener Organismen zur rechten Zeit eine Hauptursache des guten Erfolges einer CS_2 -Behandlung des Ackerbodens zu erblicken sein.

Durch mancherlei Berechnungen kann man jedenfalls auch den Skeptischsten beweisen, daß eine Annahme nicht ohne Berechtigung ist, nach welcher jene mächtige Vermehrung der verschiedensten Organismen auch eine starke Vermehrung des den Pflanzen zugänglichen Stickstoffes nach sich ziehen muß (Hiltner und Störmer).

Nach Hiltner und Störmer blieb allerdings die Frage noch offen, wie dieser N gewonnen wird, ob durch Aufschließung des Bodenstickstoffes oder Assimilation des freien N der Luft und spätere Aufschließung (allmähliches Löslichwerden desselben und schließliche Verwertung durch die Pflanzen).

Nach einigen Ernten macht sich bekanntlich in dem behandelten Boden eine vielfach auffallende Erschöpfung bemerkbar, und so könnte vielleicht die Annahme, daß vor allem eine Aufschließung schon vorhandenen Boden-N vor sich geht, die größere Wahrscheinlichkeit für sich haben, zumal wenn man den Einfluß des CS_2 auf die Salpeterbildungsvorgänge nicht ganz richtig einschätzt und bewertet.

Andererseits aber mußte schon a priori darauf hingewiesen werden, daß sich sicherlich auch sogenannte N-sammelnde Organismen an der allgemeinen Vermehrung beteiligen und daß diese ihre spezifische Tätigkeit mithin eventuell in sehr verstärktem Maße auszuüben vermögen.

Möglicherweise würde hierdurch schon allein die starke N-Wirkung einer CS_2 -Düngung ihre mehr oder weniger befriedigende Erklärung finden. Zu einer entscheidenden Lösung können natürlich diese Fragen lediglich durch möglichst sorgfältige N-Bilanzversuche gebracht werden (Hiltner).

Inzwischen konnte von Krüger und dem Verf., wie oben schon hervorgehoben wurde, bei Untersuchungen mit Freilanderden (unbehandelte und CS_2 -behandelte Bracherde bei sorgfältigster Probenahme) der Nachweis erbracht werden, daß mit einer CS_2 -Behandlung dieser Erden eine verstärkte Zunahme des Bodens an Gesamtstickstoff Hand in Hand geht. Durch weitere Untersuchungen des Verf. konnte festgestellt werden, daß besonders die sogenannten Azotobakterorganismen als Mehrer des Boden-N in CS_2 -Erden in Betracht kommen, da sich diese wichtigen Organismen regelmäßig und in reichlicher Anzahl (indirekt und direkt durch geeignete Kulturversuche bzw. mit Hilfe der Jodjodkalium-Glykogenreaktion) in solchen Erden, und zwar gut entwicklungsfähig, nachweisen lassen.

Auch ist es nach den neueren Untersuchungen des Verf. so gut wie sichergestellt, daß Cyanophyceen — wie Nostocaceen, wahrscheinlich auch Chroococcaceen u. a., — unter geeigneten Kulturbedingungen, wenn auch in minder beträchtlichen Mengen wie die mehr oder weniger farblosen sogenannten Azotobakterorganismen, den freien elementaren N der Luft verarbeiten können und daß jene Organismen bei der Vermehrung des Gesamt-N in den genannten Erden entsprechenden Anteil nehmen.

Im übrigen kann man die gute Entwicklungsfähigkeit von Azotobakter durch geeignete Kulturversuche nicht nur in solchen Freilanderden nachweisen, welche erst vor relativ kurzer Zeit mit CS_2 behandelt worden sind, sondern auch in solchen, welche längere Zeit mit CS_2 behandelt, gelagert haben und selbst eine öftere Behandlung erfahren haben.

Schließlich kann die günstige Wirkung des CS_2 auf Azotobakter, wie oben erwähnt, auch ohne weiteres an der Hand von geeigneten flüssigen Bodenkulturen zeigen, indem man nämlich durch Zugabe von geringen Mengen CS_2 die Azotobaktervegetation in Form einer üppig entwickelten Kahlhaut sichert. Durch eine mehr oder weniger vollständige Unterdrückung der verschiedenen Säurebildner bleiben die gebotenen oder im Nährsubstrat vorhandenen Kohlenhydrate bezw. kohlenhydratartigen Stoffe vorwiegend den Azotobakterorganismen zu einer reichlichen Entwicklung zur Verfügung, was um so vorteilhafter ist, als ja die genannten Stoffe eine weit bessere C-Quelle für dieselben abgeben als die bei genügendem Kalk- und Magnesiumgehalte sonst entstehenden reichlichen Mengen von Ca- und Mg-Verbindungen organischer Säuren. Aehnlich werden in dieser Hinsicht die Entwicklungsbedingungen für Azotobakter auch in der freien Ackererde liegen.

Unter den Sonderwirkungen auf einzelne Organismengruppen, deren unmittelbare Beziehungen zum Pflanzenwachstum weit klarer liegen als jene indirekten, aus der allgemeinen Vermehrung der Organismen sich ergebenden Wirkungen, muß nun weiterhin vor allem der Einfluß des CS_2 auf die Nitrifikation genügend gewürdigt werden.

Einige Salpeter-Stickstoff- und Ammoniak-Stickstoff-Zahlen von Erden bei CS_2 -Behandlung (nach Pagnoul).

Versuch I.
(Blutmehldüngung mit und ohne Schwefelkohlenstoff.)

| Untersuchungsdaten | Es enthielten 100 g gesiebter Erde | | | | | | Bemerkungen |
|--------------------|------------------------------------|--------------------------------------|--|-----------------------|--------------------------------------|--|---|
| | an Salpeterstickstoff | | | an Ammoniakstickstoff | | | |
| | bei ungedüngt | bei Düngung mit Blutmehl ohne CS_2 | bei Düngung mit Blutmehl und Schwefelkohlenstoffgabe | bei ungedüngt | bei Düngung mit Blutmehl ohne CS_2 | bei Düngung mit Blutmehl und Schwefelkohlenstoff | |
| mg | mg | mg | mg | mg | mg | | |
| am 18. Juni | 1,46 | 0,92 | 0,92 | 0,49 | 2,20 | 2,80 | Blutmehldüngung pro Topf: 20 g; je 2 kg Erde mit 3 g CS_2 behandelt |
| „ 5. Juli | 2,97 | 16,44 | 1,67 | 0,91 | 3,32 | 8,10 | |
| „ 21. „ | 1,66 | 27,07 | 19,44 | 0,77 | 0,69 | 4,61 | |
| „ 3. Aug. | 1,52 | 16,92 | 21,52 | 0,95 | 0,74 | 0,70 | |
| „ 11. Aug. | 1,66 | 14,94 | 17,20 | 0,58 | 0,43 | 0,36 | |
| „ 23. Aug. | — | 11,84 | 12,51 | — | 0,50 | 0,26 | |

Versuch II.

(Oelkuchendüngung ohne und mit Schwefelkohlenstoff.)

| Unter- suchungs- daten | Es enthielten 100 g gesiebter Erde | | | | | | Bemer- kungen |
|------------------------------|------------------------------------|---|---|-----------------------|---|---|---|
| | an Salpeterstickstoff | | | an Ammoniakstickstoff | | | |
| | bei unge- düngt | bei Düngung mit Oel- kuchen ohne CS ₂ | bei Düng. mit Oel- kuchen und Schwefel- kohlen- stoffgabe mg | bei unge- düngt | bei Düngung mit Oel- kuchen ohne CS ₂ | bei Düng. mit Oel- kuchen und Schwefel- kohlen- stoffgabe mg | |
| | mg | mg | mg | mg | mg | mg | |
| am 16. Aug. | 0,66 | 1,23 | 0,88 | 0,82 | 0,81 | 0,84 | Oelkuchen- düngung pro Topf: 40 g; je 2 kg Erde mit 10 g CS ₂ behandelt |
| „ 24. „ | 2,28 | 1,05 | 0,53 | 0,68 | 3,40 | 1,40 | |
| „ 3. Sept. | 3,29 | 13,02 | 0,52 | 0,32 | 6,75 | 8,25 | |
| „ 11. „ | 4,19 | 21,47 | 0,48 | 0,37 | 7,04 | 22,73 | |
| „ 21. „ | 2,58 | 23,50 | 1,66 | 0,93 | 1,46 | 17,89 | |
| „ 29. „ | 2,05 | 25,88 | 3,80 | 0,31 | 0,67 | 27,20 | |
| „ 16. Okt. | 2,34 | 23,74 | 17,28 | 0,76 | 0,88 | 9,16 | |

Nach den tabellarisch geordneten Zahlen einer Versuchsreihe mit Blutmehldüngung und einer Oelkuchendüngung, welche übrigens in ihren Ergebnissen recht gut übereinstimmen, wird nach Pagnoul durch den CS₂ die Nitrifikation ziemlich lange Zeit unterdrückt; beim zweiten Versuch kommt sie sogar erst nach 44 Tagen zur Geltung. An diesen Resultaten ist jedoch besonders auffallend, daß bei ihnen die Nitrifikation noch zu einer Zeit unterdrückt bleibt, als schon das regste Organismenleben im Boden herrschen muß, was durch die lebhafteste Ammoniakbildung dargetan wird.

Wollny gelangte bei Wiederholung dieser Versuche zu denselben Resultaten.

Verf. selbst konnte bei öfters wiederholter Behandlung von Lauchstädter Erde mit CS₂ eine nennenswerte Salpeterbildung einige Monate lang unterdrücken; bei anderen Versuchen im kleinen konnte wiederum gezeigt werden, daß die Salpeterbildung nur eine Zeit lang durch CS₂ unterdrückt wird und daß dieselbe späterhin um so intensiver einsetzt und um so lebhafter verläuft; auch ist hierbei bemerkenswert, daß nach längerer Zeit der Lagerung in der behandelten Erde (mit Nessler's Reagens) immerhin deutlich nachweisbare Ammoniakmengen vorhanden waren, während die unbehandelt gebliebene Erde kaum Spuren von Ammoniak erkennen ließ. Mit der anfangs für längere Zeit unterdrückten Salpeterbildung läßt sich vorläufig auch am besten die direkte anfängliche Schädigung von Pflanzen durch CS₂ erklären, wenn dieselben bereits bald nach Einbringung des Stoffes im Boden angebaut werden; es fehlt eben den Pflanzen die zu ihrer gedeihlichen Entwicklung u. a. unbedingt notwendige und stetig in ausreichender Stärke fließende Salpeterquelle.

Auch von Chaudons de Briailles wird experimentell bewiesen, daß ein mit CS₂ behandelter Boden nach einigen Monaten eine stärkere Salpeterbildung zeigt als eine unbehandelte Erde.

Von Chaudons de Briailles wurden nämlich im November zwei Ackerböden mit 40 g CS₂ bzw. mit 100 CS₂ pro qm behandelt.

Nach einer Untersuchung im Mai des folgenden Jahres enthielt

| | | | |
|------------|---|------------|---------------------------|
| 1 kg Boden | mit 40 g CS ₂ behandelt | : 190 mg N | } in Form von Salpeter |
| 1 kg " | { nicht behandelte Kon- trollparzelle | : 146 mg N | |
| 1 kg " | mit 100 g CS ₂ behandelt | : 166 mg N | |
| 1 kg " | { der zugehörigen unbehan- delten Kontrollparzelle | : 88 mg N | |

Eine herbstliche Anwendung des CS₂ wird also event. recht vorteilhaft sein, weil zunächst die vielfach allerdings wohl weit überschätzte Wegführung des Salpeters durch das Wasser im Winter (oder auch zu anderer Zeit) herabgemindert wird; wenn dann im Herbst die Salpeterbildung durch CS₂-Behandlung teilweise oder ganz niedergehalten wird, und ferner auch im Winter die niedere Temperatur sie unterdrückt, während andererseits die Umsetzungen des Boden-N zwar nicht so intensiv, aber wie durch verschiedene Zählungen festgestellt ist, immerhin ganz bedeutend fortläuft, so wird sich im Frühjahr naturgemäß eine recht beträchtliche Menge an gebundenem N angehäuft haben, welcher gerade dann in Salpeter übergeführt werden kann, wenn die Pflanzen am meisten Salpeter aufzunehmen vermögen (Hiltner).

Wenn auch nach neueren Forschungen den sogenannten denitrifizierenden Organismen im Ackerboden unter normalen Verhältnissen nicht im entferntesten die Bedeutung zuzusprechen ist, welche man denselben früher beilegte, so ist man doch im Anschluß an die Versuche über Salpeterbildung genötigt, in der Zurückdrängung der salpeterzerstörenden Organismen durch den CS₂ ein weiteres Moment zu sehen, welches die günstige Wirkung derselben erklärt (Hiltner).

Was die Herbeiführung günstiger Entwicklungsbedingungen im Ackerboden für die überaus wichtigen Azotobakterorganismen anbelangt, so darf neben einer beschränkten Salpeterbildung nicht unerwähnt bleiben, daß bei CS₂-Düngung Fäulnisprozesse im allgemeinen weniger intensiv verlaufen werden, und daß demnach eine die Entwicklung von Azotobakter ungünstig beeinflussende, weitgehende Amid- und Ammoniakbildung durch Fäulnisorganismen für eine bestimmte Zeit vermieden wird.

In dieser Beziehung ist auch die anfänglich weitgehende Unterdrückung der starken Säurebildner als ein günstiges Moment für die Azotobaktervegetation zu betrachten.

Späterhin, wenn bereits längere Zeit nach einer CS₂-Behandlung des Bodens verstrichen ist, können sich starke Säurebildner, wie Pektinvergärer, Granuloseorganismen der verschiedensten Art wiederum reichlicher vermehren und so bei einer event. weitgehenden Aufschließung (Mineralisierung) organischer Substanz mitwirken; Kalk- und Magnesiaverbindungen werden in Form organischer Salze löslich gemacht; letztere können allerdings unter Umständen auch eine weitere Zersetzung unter erneuter Bildung von kohlensauren Salzen erleiden. Unter geeigneten Entwicklungsbedingungen ist übrigens auch Azotobakter im stande, geringe Mengen organischer Säuren zu bilden; manche Versuche machen es alsdann sogar sehr wahrscheinlich, daß von diesen Organismen selbst eine Ueberführung von organischem N in anorganischen N, eine Salpeterbildung, wenn auch nur eine wenig starke, erfolgt. Ueber die Bedeutung des CS₂ für die Entwicklung der spe-

zifischen Humusvergärer (unter denen in erster Linie die sogenannten Streptothrixpilze zu berücksichtigen wären), sowie der Cellulosevergärer im Ackerboden, von denen neben Wasserstoff, Methan, organische Säuren gebildet werden, weiß man noch nichts Näheres. Besondere diesbezügliche Studien, wie auch eingehendere Versuche über die Wirkung des CS_2 auf die Algenvegetationen sind sehr erwünscht. Infolge ihrer vielfach recht reichlichen Mannitbildung und Glykogenbildung geben diese Organismen zweifellos gute C-Quellen für Azotobakter ab. Nach allen bisherigen Untersuchungen vermögen übrigens grüne Algen elementaren N nicht zu verwerten, müssen aber neben Schimmelpilzen besonders als solche Organismen bewertet werden, welche flüchtige Ammoniakverbindungen, aber auch den Salpeter, leicht verarbeiten und so den Boden vor allzu großen diesbezüglichen Verlusten schützen.

In Bezug auf die Bedeutung des CS_2 für die Fruchtbarkeit des Bodens darf auch nicht unerwähnt bleiben, daß man im Sommer bei längerer Trockenheit und relativ niedrigem Wassergehalte der Erde beobachten kann, wie eine CS_2 behandelte Erde (Freilanderde) auffallend feuchter ist, und auch tatsächlich einen nicht unbeträchtlichen höheren H_2O -Gehalt aufweist, als die entsprechende nicht behandelte Erde. Schließlich ist auch noch zu bemerken, daß in CS_2 behandeltem Ackerboden (Bracherde) keine nennenswerte Verunkrautung festgestellt werden konnte, während in der entsprechenden unbehandelten Erde (bearbeitete Bracherde) sich eventuell allerlei Ackerunkräuter ganz freudig entwickeln können; dies dürfte teilweise wohl darauf zurückzuführen sein, daß in dem einen Falle bereits eine lebhaft Salpeterbildung eintreten konnte, im anderen Falle aber nicht. —

Nach alledem ist also die große Bedeutung des CS_2 für den Boden und dessen Fruchtbarkeit nicht zu verkennen, wenn auch naturgemäß zur besseren und vor allem vollauf befriedigenden Beurteilung der ganzen Frage sich noch viel eingehendere Untersuchungen notwendig machen, als bisher in dieser Hinsicht von verschiedenen Seiten unternommen werden konnten.

Nach den bisherigen Kenntnissen und den obigen Mitteilungen dürfte indessen gerade der wichtigste Punkt über die Wirkung des CS_2 auf die Ackererde — nämlich seine Beziehungen zur N-Frage — bereits einigermaßen befriedigend geklärt sein.

Kurz referierend, läßt sich also die Bedeutung des CS_2 für die gesamte N-Frage dahin zusammenfassen, daß mit einer anfänglichen Unterdrückung der Amid-Ammoniak-Bildung (durch Fäulnisprozesse) und der Nitrifikation zunächst im allgemeinen günstige Bedingungen für stickstoffsammelnde Organismen (besonders für Azotobakter) geschaffen werden und daß späterhin durch eine in verstärktem Maße einsetzende Umwandlung von Organismeneiweiß und anderen N-haltigen organischen Stoffen, in Amid- und Ammoniakverbindungen bzw. weiterhin durch eine um so lebhaftere und intensivere Salpeterbildung (sobald längere Zeit nach erfolgter CS_2 -Behandlung verstrichen ist) den angebauten Pflanzen eine ausreichende, gleichmäßig fließende, lösliche N-Quelle zur Verfügung steht. — Als C-Nahrung sind im Ackerboden für Azotobakter allerlei organische Stoffe, wie Pflanzenrückstände, Pektine, Pentosane, Humussubstanzen etc. vorhanden; auch können Algen (Glykogen, Mannit) und Schimmelpilze (Salze organischer Säuren) geeignete Kohlenstoffnahrung liefern. —

Durch die im Vorstehenden erörterte Bedeutung des CS_2 für den Boden, sowie durch einige direkte Beobachtungen und Untersuchungen des Verf. findet nunmehr auch eine Gründung mit Senf eine besser begründete Erklärung ihrer günstigen Wirkung auf den Boden bzw. auf die Nachfrucht, als es beim früheren Stande der Bodenmykologie möglich war. Eine solche, wenn auch event. nur vorläufige, bessere Erklärung war übrigens bald zu erwarten, nachdem bezüglich einer Senfgründung schon von Hiltner und Störmer auf eine besondere Wirkung des Senfes bzw. seiner Bestandteile auf die Organismenflora des Bodens hingewiesen worden ist. Wohl ahnte man schon frühzeitig vor allem irgend einen Zusammenhang zwischen Senfgründung und Stickstofffrage (N-Assimilation durch die Senfpflanzen?): man sah die augenscheinlich günstige Wirkung einer solchen Gründung auf die Nachfrucht, und selbst bei Senf als Vorfrucht (also nach dem Abernten des Senfes) ist ein günstigerer Zustand des Bodens oftmals unverkennbar; aber das Wie der günstigen Wirkung konnte man damals noch nicht in befriedigender Weise erklären. Als nämlich das Stickstoffsammelvermögen der Leguminosen in früherer Zeit weniger klar als gegenwärtig erkannt war, neigten manche Forscher und auch gar mancher praktische Landwirt einer Ansicht zu, nach welcher der Senf einen ebenso guten „Stickstoffmehrer“ wie die Hülsenfrüchte und die Kleearten abgeben sollte, und erst die Untersuchungen, welche sich an die bekannte epochemachende Entdeckung von Hellriegel und Wilfarth anschlossen, erschütterten die obigen Anschauungen, indem durch dieselben unwiderleglich bewiesen werden konnte, daß nur die Leguminosen und keineswegs der Senf imstande sind, sich den freien Stickstoff der Luft zu nutze zu machen. Nach diesen Feststellungen wurde dem Senfe wiederum die untergeordnetere Rolle eines „Stickstoffehalters“ zuerteilt, und ganz vereinzelt nur wurden in der landwirtschaftlichen Praxis Stimmen laut, welche doch noch dem Senf als ausgezeichnete Vorfrucht das Wort redeten (Hiltner). Seitdem wurde man durch mancherlei Beobachtungen unwillkürlich zu der Ansicht gedrängt, daß dem Senf vorwiegend eine indirekte Wirkung auf die N-Ernährung der Nachfrucht zukommt, welche man durch eine Beeinflussung der Organismenflora des Bodens, ganz ähnlich derjenigen des CS_2 , zu erklären hat. Nachdem alsdann von Krüger und dem Verf. mit Hilfe einer CS_2 -Düngung eine nicht unbedeutliche Anreicherung des Bodens an Gesamtstickstoff festgestellt werden konnte, unterliegt es für den Verf. kaum noch einem Zweifel, daß man mit einer Senfgründung oder mit Senf als Vorfrucht bei Vorhandensein ausreichender Mengen organischer C-Verbindungen im Boden weiterhin ähnliche Resultate erzielen wird; diese Ansicht ist um so begründeter, als es bereits gelungen ist, nachzuweisen, daß durch Senfgrünsubstanz säurebildende Organismen in speziellen Bodenkulturen in ihrer Entwicklung gehemmt werden, hingegen Azotobakter als Stickstoffsammler zu reichlicher Entwicklung, bisweilen sogar zu einer ziemlich üppigen Vegetation gelangt. Auch kann ja, wie schon oben erwähnt wurde, Senfgrünsubstanz in geeigneten Kulturen (zunächst allerdings in Rohkulturen) den Azotobakterorganismen als C-Quelle dienen. Ist also der Senf selbst zweifellos nicht imstande, den freien N der Luft zu verarbeiten, so haben wir doch in ihm als Vorfrucht oder als

Gründung ein Mittel, um unter Umständen günstige Bedingungen im Boden für die unstreitig wichtigsten N-sammelnden Organismen — nämlich für die Azotobakterorganismen — zu schaffen. Danach wird also der Senf im Boden in gewisser Hinsicht sehr wohl N-bereichernd wirken können; freilich wird man ihn den Leguminosen gegenüber lediglich als einen „indirekten Stickstoffmehrer“ ansehen müssen. Die näheren Verhältnisse seiner diesbezüglichen günstigen Wirkung zu erforschen, wie auch seine Bedeutung für Organismenflora und Boden ganz im allgemeinen klarzulegen, wird nun Sache weiterer ausgedehnter Untersuchungen sein müssen. Immerhin wird man späterhin möglicherweise auch mit einer Senfgründung [insbesondere bei gleichzeitiger schwacher Phosphorsäuregabe für die spezifische Organismenflora] einigermaßen günstige Resultate bezüglich der N-Frage in der landwirtschaftlichen Praxis erzielen können. Selbstverständlich sind aber diese Fragen einzig und allein durch sorgfältigste Stickstoffbilanzversuche erst einer entscheidenden Lösung entgegenzuführen. In dieser Hinsicht besondere Versuche anzustellen, ist nun aber schon aus dem Grunde geboten, weil die praktische Anwendung einer Schwefelkohlenstoffbehandlung in größerem Maßstabe wenigstens vorläufig noch auf mancherlei Schwierigkeiten stößt. Auf alle Fälle ist aber die Hoffnung nicht ganz unberechtigt, mit Hilfe von Schwefelkohlenstoffderivaten in Form von Senfgrünsubstanz bezw. Senfwurzelsubstanz in der Praxis weiterhin event. ähnlich günstige Resultate zu erzielen, wie mit einer direkten CS_2 -Behandlung. (Vergl. hierzu auch die diesbezüglichen Mitteilungen von Hiltner und Störmer.)

Litteraturangaben.

- Behrens, J., A. Kochs Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den Gärungsorganismen. Bd. VI. 1895. p. 280.
- Bernthsen, Organische Chemie. Braunschweig 1895.
- Chaudons de Briailles, De la influence du sulfure de carbone sur la nitrification. (Revue de viticulture. T. IV. p. 320. Nach Kochs Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den Gärungsorganismen. Jahrg. IV. 1895. p. 280.)
- Fischer, A., Vorlesungen über Bakterien. II. Aufl. 1903. p. 203.
- Fruwirth, Frühlings landw. Zeitschrift. 1896.
- Gerlach, Jahresber. d. landw. Versuchstation Jersitz-Posen. 1896. p. 3.
- , Jahresber. d. landw. Versuchstation Jersitz-Posen. 1900/01. p. 501. 1902.
- Girard nach Wollny, Vierteljahrsschrift des Bayr. Landwirtschaftsrats. 1898. Heft 4.
- Heinze, B., Ueber die Bildung und Wiederverarbeitung von Glykogen durch niedere pflanzliche Organismen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. No. 1/3, 6/8, 11/16.)
- , Einige Berichtigungen und weitere Mitteilungen zu der (vorstehenden) Abhandlung: „Ueber die Bildung und Wiederverarbeitung von Glykogen durch niedere pflanzliche Organismen“. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. No. 1, 3/4, 6/7.)
- Hiltner und Strömer, Studien über die Bakterienflora des Ackerbodens, mit besonderer Berücksichtigung ihres Verhaltens nach einer Behandlung mit Schwefelkohlenstoff und nach Brache. 2) Die Wirkung der CS_2 auf das Bakterienleben des Ackerbodens. (Arb. d. biol. Abt. für Land- u. Forstwirtschaft am Kais. Gesundheitsamt. Bd. III. 1903. p. 477—527.)
- Hiltner, L., Neuere Erfahrungen auf dem Gebiete der Bodenbakteriologie unter besonderer Berücksichtigung der Gründüngung und der Brache. (Arbeiten der deutschen Landwirtschaftsgesellschaft. Bodenpflege und Pflanzenbau. Heft 98. p. 59—78.)
- Hollrung, M., Chemische Mittel gegen Pflanzenkrankheiten. Berlin (P. Parey) 1898.
- Koch, Alfred, Ueber die Ursachen der Rebenmüdigkeit mit besonderer Berücksichtigung der CS_2 -Behandlung. (Arbeiten der Deutschen landw. Gesellschaft. 1899. Heft 40.)
- Kühn, J., Bericht aus dem physiol. Laborat. und der Versuchsanstalt des landw. Instituts der Univ. Halle. Heft 3. p. 88—102.)

- Kurzwelly, W., Ueber die Widerstandsfähigkeit trockner pflanzlicher Organismen gegen giftige Stoffe. (Jahrbuch für wissenschaftl. Botanik. Bd. XXXVIII. p. 291; I. K. 1902. p. 132.)
- Morgen, Bericht der Versuchsstation Hohenheim 1896. p. 74; 1898. p. 6.
- Oberlin, Ch., Bodenmüdigkeit und Schwefelkohlenstoff. Mainz 1894. Zabern.
- Pagnoul, Annales agronomiques. T. XX. 1895. p. 497. K. I. 7. 1896. p. 214.
- Perrand, J., Action de sulfure de carbone sur quelques champignons et ferments, et en particulier sur la fermentation nitrique. (Annales de la science agronomique française étrangère. sér. 2. F. 1. p. 291; K. I. 7. 1896. p. 199.)
- Ritter, Mitteilungen über Weinbau und Kellerwirtschaft. 1900. No. 10. p. 149.
- Schmidt, E., Pharmazeutische Chemie. Bd. I u. II. Braunschweig. 1898.
- Wagner, P., Abey, J., Dosch, R. und Matz, F., Forschungen über den relativen Düngerwert und die Konservierung des Stallmiststickstoffes. (Landw. Versuchsstat. p. 347.)
- Wollny, Untersuchungen über die Beeinflussung der Fruchtbarkeit der Ackererde mittelst Schwefelkohlenstoff. (Vierteljahrsschrift d. bayr. Landwirtschaftsrats. 1898. Heft 4.)

Nachdruck verboten.

Einwirkung des Hederichs auf die Nitrifikation der Ackererde.

Von Prof. Dr. E. Gutzeit,

Vorsteher der Abteilung für Pflanzenkrankheiten und Bodenbakteriologie am Versuchsfelde der Universität Königsberg i. Pr.

In welchem Maße das Wachstum der Kulturpflanzen durch Unkraut beeinträchtigt wird, hat in einer bekannten Arbeit Wollny zahlenmäßig nachgewiesen¹⁾.

„Daß hinsichtlich einer Erklärung dieser Benachteiligung die durch das Unkraut bewirkte Beraubung des Bodens an Pflanzennährstoffen in erster Linie in Anspruch genommen wird, ist natürlich, da die Unkräuter nach den vorliegenden Analysen ziemlich bedeutende Mengen von Pflanzennährstoffen beanspruchen, die sie den Kulturgewächsen entziehen und dadurch ihrem Produktionsvermögen Abbruch tun.“

Indes hat Wollny in der genannten Arbeit gezeigt, daß die zwischen den angesäten Pflanzen auftretenden natürlichen Kinder des Bodens den Einfluß noch anderer Wachstumsfaktoren herabdrücken.

So war die Bodentemperatur der verunkrauteten Parzellen um 2,5° C niedriger, die Bodenfeuchtigkeit um ca. 2 Proz. vermindert, und Wollny knüpft an diese vor 22 Jahren erfolgte Feststellung die Bemerkung, „daß die Intensität der Zersetzung organischer Stoffe und die Menge der beim Zerfall der humosen Substanzen in den aufnehmbaren Zustand übergehenden stickstoffhaltigen und mineralischen Substanzen natürlicherweise dadurch beeinträchtigt werde“.

Die Bildung und Umbildung der Pflanzennährstoffe des Bodens wird gegenwärtig in ausgedehntem Maße auf die Tätigkeit von Mikroorganismen

1) Forschungen auf dem Gebiet der Agrikulturphysik. Bd. VII. Heft 4 und 5. XXVI. Wollny, Untersuchungen über den Einfluß der Unkräuter auf das Wachstum der Kulturpflanzen.

zurückgeführt; bei dem Bestreben der modernen Bodenbakteriologie, die mannigfaltigsten Umstände zu untersuchen, welche jene Kleinlebewesen nach Quantität und Qualität beeinflussen und so die Erklärung für viele Erscheinungen des Ackerbaues zu finden, bei denen Agrikulturchemie und Agrikulturphysik versagten, dürften daher Untersuchungen, inwieweit sich eine Einwirkung der Unkräuter auf die Bodenbakterien feststellen läßt, nicht fehlen. Dem Zwecke, solche anzuregen, möge daher die Mitteilung folgender kleinen Arbeit dienen, das gelegentliche Resultat von Studien über die Bekämpfung des Hederichs mit Eisenvitriollösung.

Des näheren Verständnisses halber muß zunächst auf letztere eingegangen werden.

A. Feldversuche.

In Waldgarten, dem Versuchsfelde der Universität Königsberg, trat in der Abteilung für Pflanzenkrankheiten und Bodenbakteriologie auf einem größeren mit Sommerweizen bestellten Ackerstück im Jahre 1903 der Hederich (zum größten Teil *Sinapis arvensis* L., zum geringen *Rhaphanus raphanistrum* L.) sehr stark auf, obgleich es in den drei letzten Jahren — 1. April 1901 war das Versuchsfeld für die Universität angekauft — stets im Herbst vor dem Pflügen geschält und im Frühjahr nur mit Schleppe und Egge bearbeitet worden war. Auch war dem Sommerweizen Hackfrucht (Kartoffeln) vorangegangen.

Ferner waren 160 kg pro ha einer kleinkörnigen Weizensorte (Green Mountain) gedrillt und zwar an einem für Ostpreußen zeitigen Termin, nämlich am 11. April; indessen verzögerte kalte Witterung und starke, den lehmigen Boden verschlammende Regengüsse den Aufgang und die Entwicklung der Saat, so daß sich der Hederich gut entwickelte und Anfang Juni das ganze Feld ein gelbblühendes Aussehen zeigte.

Um einem das Versuchsfeld besuchenden landwirtschaftlichen Verein die Wirkung einer Besprengung mit Eisenvitriollösung zu zeigen, war vorher eine solche in größerem Umfang vorgenommen. Dazu wurde das $100 \times 100 = 10000$ qm fassende Feldstück in 10 Streifen, deren jeder 160 m und 10 m Breite aufwies, geteilt und von diesen No. 1, 3, 5, 7, 9, also die Hälfte mit 15-proz. Eisenvitriollösung, und zwar 400 l pro ha, besprengt.

Der beabsichtigte Zweck einer Demonstration war vorzüglich erreicht, bei dem späten Termin der Sprengung — 15. Juni — wurde aber außer dem Hederich auch der Weizen stark beschädigt, zumal längere Zeit nach der Besprengung eine ziemliche Dürre herrschte.

Es wurde daher gerntet pro ha:

| | Sommerweizen | | | |
|---|--------------|-------|-------|-------|
| | Stroh | | Korn | |
| | dz | Proz. | dz | Proz. |
| auf unbesprengt | 33,61 | 100,0 | 19,24 | 100,0 |
| „ besprengt | 23,87 | 71,0 | 17,61 | 91,5 |
| also Verlust durch die Besprengung von | 9,74 | 29,0 | 1,63 | 8,5 |

Die Hederichpflanzen waren trotz der späten Besprengung so stark mitgenommen, daß sie es nur zu einem äußerst geringen Fruchtansatz brachten¹⁾, was für die Bekämpfung dieses Unkrautes dasselbe Resultat

1) Damit stimmt überein, daß nach Hildebrandt-Kleschewo (Landw. Illustr. Ztg. 1903. p. 485) und nach A. Schulz (Untersuchungen über die Wirkung von Eisen-

wie eine Vernichtung bei zeitiger Besprengung erzielen muß, da es sich um eine einjährige Pflanze handelt.

Diesen Effekt bei dem Reichtum vieler Ackerböden an Hederichsamen und deren langer Keimfähigkeit für das nächste Jahr versuchsmäßig festzustellen erschien um so interessanter, als wohl unzählige Versuche über die Einwirkung der Eisenvitriollösung auf die verschiedensten Kulturgewächse und Unkräuter vorliegen, aber meines Wissens keine, die den Einfluß einer einmaligen Besprengung auf das Auftreten eines Unkrauts in den folgenden Jahren feststellen.

Das ganze Feld wurde zeitig nach dem Abernten des Sommerweizens geschält und vor Winter gepflügt, im Frühjahr 1904 jedes unnötige Rühren des Bodens vermieden. Die Bestellung erfolgte am 18. April mit Hafer, der — 80 kg pro ha — auf 16 cm gedrillt wurde. Das Quantum war absichtlich etwas gering bemessen, um das Wachstum des Hederichs zu begünstigen.

Aus wirtschaftlichen Gründen hatte das Feld kurz vor dem zur Saat gegebenen Eggstrich eine Düngung von 300 kg Ammoniak-Superphosphat (6 + 12 Proz.) und 100 kg Kali (40 Proz.) erhalten unter Benutzung einer Düngerstreumaschine.

Die Witterung war für das Auflaufen des Hafers zunächst günstig, dann aber kühl und regnerisch, so daß, wie überall in der Provinz Ostpreußen, so auch auf dem Versuchsfelde, der Hederich eine üppige Entwicklung zeigte.

Auf den im Vorjahre (1903) mit Eisenvitriollösung besprengten 5 Streifen des bezeichneten Ackerfeldes war der Hederich fast ganz verschwunden, so daß sich Ende Mai dieselben mit scharfen Grenzen von den gelbblühenden anderen abhoben. Um nun den Versuch quantitativ bequemer zu verfolgen, wurde bei der Ernte an einer Kante des großen Feldes, wo der Stand der Pflanzen ein sehr gleichmäßiger war und kein anderes Unkraut stören konnte, von 4 nebeneinander liegenden Streifen je ein Stück von je 11 m abgeschnitten, so daß nach Beseitigung einer meterbreiten Randzone 4 Parzellen à $10 \times 10 = 100$ qm resultierten. (Vgl. das Schema auf p. 367: I bis IV.) Von diesen hatten No. I und III im Vorjahre jene Besprengung mit Eisenvitriol erfahren und zeigten einen gleichmäßigen Haferbestand ohne nennenswerte Verunkrautung durch Hederich, No. II und IV — 1903 unbehandelt geblieben — waren sehr stark damit durchsetzt.

Die Ernte erfolgte in der Weise, daß der ganze Ertrag jeder Parzelle für sich eingefahren und mit einer durch Roßwerk getriebenen Stiftenmaschine gedroschen wurde. Sämtliche Spreu wurde gewogen und zum Stroh hinzugerechnet, 1. und 2. Sorte des Hafers nach dem Reinigen vereinigt. Eine Zusammenstellung der Resultate gibt dann folgende Tabelle, in der die Zahlen Kilogramme pro 100 qm oder Doppelzentner pro ha bedeuten.

vitriol etc. auf Unkraut. Inauguraldissertation Königsberg. 1904. p. 111), Senf und Hederich zur Blütezeit leichter zu vertilgen sind als in einem früheren Stadium. Gewöhnlich wird als durchaus notwendig erachtet, zu spritzen, wenn der Hederich das vierte Blatt entwickelt hat.

| | Hafer | | Gesamternte |
|---|-------|--------|-------------|
| | Stroh | Körner | |
| No. I. 1903 mit Fe_2SO_4 behandelt, 1904 frei von Hederich | 28,8 | 20,5 | 49,3 |
| No. II. 1903 nicht behandelt, 1904 verunkrautet | 24,8 | 14,9 | 39,7 |
| No. III wie No. I | 29,1 | 18,9 | 48,0 |
| No. IV wie No. II | 24,5 | 13,2 | 37,7 |
| Mittel in Gewicht | 29,0 | 21,7 | 48,7 |
| Mittel in Prozenten | 100 | 85,2 | 100 |

Wie groß also der Nutzen einer Besprengung mit Eisenvitriollösung im Jahre darauf zu veranschlagen, ergibt sich deutlich aus den Ernteergebnissen der 1903 unbesprengten und 1904 verunkrauteten Parzelle. Es sind dort die Erträge im Mittel um 21 Proz. und zwar der Strohertrag um 15 Proz., der der Körner um 30 Proz. herabgemindert.

Hervorzuheben ist dabei, daß die Ertragszahlen der gleichnamigen Parzellen einander sehr nahe kommen, ein Zeichen, daß mit Ausnahme der Besprengung auf allen 4 Parzellen gleiche Verhältnisse obgewaltet haben, obgleich sie nur eine feldmäßige Bearbeitung und Bestellung erfuhren hatten.

Diese Depression der Gesamternte entspricht zunächst den Versuchen von Wollny, der auf verunkrauteten Parzellen noch stärkere Ausfälle in der Ernte der Kulturgewächse feststellte. Denn wenn infolge der genannten Düngung auch ein reichliches Quantum von Pflanzenstoffen im Boden vorhanden war und bis Mitte Mai, da der Hederich auf der Höhe seiner Entwicklung stand — wie weiter unten zahlenmäßig belegt wird — reiche Niederschläge gefallen waren, so ist es doch selbstverständlich, daß bei einem gemischten Pflanzenbestand die einzelnen Komponenten desselben geringere Quantitäten produzieren als bei Reinsaat.

Nicht so ohne weiteres ist es unter den genannten Umständen einleuchtend, daß auch eine Schädigung der Erntequalität beim Hafer eingetreten ist, wie sie schon darin liegt, daß auf den Hederichparzellen nur 15 Proz. Stroh, aber 30 Proz. Körner weniger geerntet sind ¹⁾.

Eine solche Beeinflussung der Haferpflanzen zeigte sich übrigens schon frühzeitig im ganzen Wuchs des Getreides.

Am 29. Juli mit je 250 Haferpflanzen vorgenommene Messungen und Wägungen ergaben:

| | mittlere Länge | | mittleres Gewicht | |
|----------------------|----------------|-------|-------------------|-------|
| | cm | Proz. | g | Proz. |
| Eisenvitriolparzelle | 101,4 | 100,0 | 6,85 | 100 |
| Hederichparzelle | 82,8 | 81,6 | 5,64 | 82,3 |
| Differenz | 18,6 | 18,4 | 1,21 | 17,7 |

1) Diese geringere Einbuße an Stroh auf den Hederichparzellen ist nicht dadurch zu erklären, daß hier mit dem Hafer- auch das Hederichstroh geerntet worden. Durch die Stiftdreschmaschine wird das Hederichstroh fast gänzlich zerschlagen und kommt in die Spreu, deren Gewicht oben zu dem des Strohs hinzugerechnet ist. Geschieht dies nicht, so ergeben sich als Mittelzahlen der gleichnamigen Parzellen für Haferstroh 19,5 und 16,6, das ist 100:85, also dasselbe Verhältnis. Das Hederichstroh fällt also nicht schwer ins Gewicht.

Dieser um 18 cm niedrigere Stand des Hafers machte sich nicht nur auf den kleinen Parzellen No. II und IV, sondern auf sämtlichen, diesen entsprechenden fünf großen Streifen bemerkbar, so daß die wellenförmige Oberfläche des ganzen Feldes schon von weitem auffiel.

Die chemische Analyse jener Haferpflanzen vom 29. Juli ergab ferner in der Trockensubstanz der oberirdischen Teile an Stickstoff:

| | | |
|------------------------------|------|---------|
| für die Eisenvitriolparzelle | 1,10 | Proz. N |
| „ „ Hederichparzelle | 0,86 | „ N |
| Differenz | 0,24 | Proz. N |

Desgleichen zeigten die Ernteprodukte des Hafers an Stickstoff in der Trockensubstanz:

| | | |
|----------------------|-------|--------------|
| | Stroh | Korn |
| Eisenvitriolparzelle | 0,52 | 1,94 Proz. N |
| Hederichparzelle | 0,45 | 1,82 „ N |
| Differenz | 0,07 | 0,12 Proz. N |

Daraus berechnet sich unter Berücksichtigung der geernteten Stroh- und Körnermengen folgender Stickstoffgehalt in der Trockensubstanz der Gesamternte:

| | | |
|----------------------|------|----------|
| Eisenvitriolparzelle | 1,09 | Proz. N. |
| Hederichparzelle | 0,93 | „ N. |
| Differenz | 0,16 | Proz. N. |

Der Stickstoffgehalt der Haferpflanzen auf den nicht verunkrauteten Parzellen bleibt also während der angegebenen Zeit konstant, derjenige des Hafers auf den Hederichparzellen vermehrt sich, so daß die anfangs erhebliche Differenz von 0,24 Proz. sich etwas verringert.

Ergibt sich also schon daraus für die mit Hederich durchsetzten Haferpflanzen ein relativer Stickstoffmangel, so stimmt damit auch die Beobachtung überein, daß sämtliche 5 Streifen des ganzen Feldes, die 1903 keine Besprengung erfahren, 1904 ein auffallend bleiches Aussehen zeigten, das sich besonders nach dem Ablühen der Cruciferen scharf von der normalen grünen Farbe der Haferpflanzen auf den anderen 5 Streifen abhob. Wurde der Kontrast mit der Zeit auch etwas geringer, so war er zur Zeit der Probenahme am 29. Juli noch deutlich bemerkbar. Ein Extrakt von 500 g frischer Haferblätter jener Proben mit 1 Liter 96-proz. Alkohol ergab einerseits eine dunkelgrüne, andererseits eine hellere, mehr braungelb gefärbte Lösung.

Da man gewohnt ist, die nach Stickstoffdüngung auftretende dunkelgrüne Färbung als ein Zeichen größeren Stickstoffgehalts anzusehen, so kann man auch umgekehrt die hellere Färbung der Haferpflanzen auf den Hederichparzellen mit ihrem niederen Stickstoffgehalte in Beziehung bringen ¹⁾.

1) Daß die grüne Farbe des Hafers auf den Eisenvitriolparzellen im Jahre 1904 nicht auf eine durch die vorjährige Besprengung mit Eisenvitriol bedingte Zufuhr von Eisenverbindungen zum Boden beruhen kann, bedarf kaum der Erörterung. Selbst angenommen, daß von den 100 l einer 15-proz. Eisenvitriollösung pro Morgen alles Eisensalz mit den Niederschlägen in den Boden gelangt, würde der Eisengehalt desselben — die Ackerkrume nur zu 10 cm angenommen — sich um 0,0015 Proz., berechnet als Fe₂O₃, erhöhen, also um einen verschwindenden Betrag, da die Analyse des Bodens — extrahiert mit kochender, konzentrierter Salzsäure — 5,6 Proz. Eisenoxyd ergab. Desgleichen kommt eine etwaige aufschließende Wirkung der aus dem Eisenvitriol stammenden Schwefelsäure nicht in Betracht, da das 1904 verwandte käufliche Ammo-

Die Ursache eines solchen Stickstoffmangels bei den Haferpflanzen auf den Hederichparzellen wird man zunächst in dem bekannten Stickstoffbedürfnis der Senfpflanzen suchen.

Analysen von grünem Hafer und Hederich (zumeist *Sinapis arvensis*) in der Blüte, beide für sich und auf Parzellen gewachsen, die denselben Boden und dieselbe Düngung wie obige Versuchspartellen aufwiesen, geerntet 9. Juli, ergaben:

| | | |
|--------------|------|--------------------------------|
| grüner Hafer | 1,47 | Proz. N in der Trockensubstanz |
| Hederich | 2,84 | " " " " " " |

Die Wirkung des Hederichs als Unkraut wird also nicht nur darin liegen, daß er durch Inanspruchnahme der Wachstumsfaktoren mit den Haferpflanzen in gleicher Weise in Konkurrenz tritt, wie diese untereinander, sondern daß er den Stickstoffvorrat einseitig für sich erschöpft und für die Haferpflanzen in das Minimum bringt.

Nach diesem muß sich aber die Produktion der organischen Substanz richten; da zu den Körnern viermal soviel Stickstoff gehört als zum Stroh, erklärt sich deren relativ stärkerer Ausfall und mithin der geringere Stickstoffgehalt der Gesamternte.

Es fragt sich nun, ob im vorliegenden Falle jenes größere Stickstoffbedürfnis des Hederich ganz allein den so augenfälligen Stickstoffmangel bei den Haferpflanzen der Parzellen II und IV verursacht haben wird.

Durch die Düngung mit 300 kg Ammoniumphosphat (6 + 12 Proz.) ist dem Boden ein Quantum von 18 kg Stickstoff zugeführt worden, dicht vor der Saat und in einer Form, die der Boden nicht so leicht in die Tiefe versinken läßt.

Nach dem Ertrage auf Parzelle I und III ergibt sich eine Ernte von 48,7 dz Hafer + Stroh. Bei einem Wassergehalt von 9,8 Proz. und Stickstoffgehalt der Trockensubstanz von 1,09 Proz. berechnet sich daraus ein Stickstoffquantum von 47,9 kg pro ha, das zur Ernte gebraucht worden.

Nach den bekannten Ermittlungen der preußischen Versuchsstationen erhält der Acker mit den Niederschlägen im Jahre 14 kg Stickstoff pro ha. $18 + 14 = 32$ kg Stickstoff würden beinahe $\frac{3}{4}$ des Erntestickstoffes im vorliegenden Falle decken.

Der Boden der Versuchspartellen bestand ferner aus dunkelgefärbtem fruchtbarem Lehm, der 24 Proz. feinste bei 0,2 mm Geschwindigkeit abschlämmbare Teilchen enthält, bestimmt mit dem Schöneschen Schlämmapparat. Trotz mäßiger Düngung während der letzten Jahre waren die Ernteerträge befriedigend, wie aus folgenden Angaben hervorgehen dürfte: Die letzte Stallmistdüngung hatte er 1900 erhalten und Roggen getragen, 1901 im ersten Jahre der Versuchstätigkeit brachte er ohne Düngung den hohen Ertrag von 33 dz Hafer und 42 dz Stroh pro ha, 1902 gedüngt mit 2 dz aufgeschlossenem Perugano 200 dz Kartoffeln, 1903 ohne jede Düngung 19 dz Sommerweizen und 34 dz Stroh. Vor der Düngung und Bestellung zu 1904 wies die wasserfreie Feinerde, die das 2 mm-Sieb passiert, 0,35 Proz. Stickstoff auf.

niumphosphat durch Mischen von schwefelsaurem Ammoniak und Superphosphat hergestellt worden war und durch beides erhebliche Mengen von Schwefelsäure allen Partellen zugeführt wurde.

Demnach besaß der Boden selbst einen ansehnlichen Vorrat an Stickstoff, so daß nach Düngung mit 18 kg desselben dem Hafer ein erhebliches Quantum daran zur Verfügung gestanden haben muß, mehr als genügt, um jene 48 kg zur Ernte zu bestreiten¹⁾.

Wenn nun auch der Hederich in 100 Teilen Trockensubstanz die doppelte Menge an Stickstoff enthält wie der Hafer, so fällt das Quantum, das der erstere auch bei starker Verunkrautung liefert, der Stroh- und Kornmasse des Hafers gegenüber nicht schwer ins Gewicht (vgl. p. 361 Anm.)

Ferner gehört der Hafer bezüglich des Stickstoffs zwar nicht zu den anspruchsvollsten Kulturpflanzen, ist aber für eine Stickstoffdüngung durchaus dankbar, muß also auch ein ziemliches Aneignungsvermögen dafür besitzen. Es ist daher nicht einzusehen, daß in dem vorliegenden Versuch der Hederich allein mittelst seines größeren Stickstoffbedarfes den verfügbaren Stickstoff in einem solchen Maße an sich gerissen haben sollte, daß der starke Stickstoffmangel der Haferpflanzen auf Parzelle II und IV und damit die ganze Depression der Ernte dadurch erklärt werden könnte.

Es ist dem Referenten eine solch starke Wirkung des Hederichs auf die Kulturpflanzen in anderen Jahren auf dem Versuchsfelde auch nicht begegnet. Lassen sich nun noch weitere Wachstumsfaktoren ermitteln, durch deren einseitige Inanspruchnahme der Hederich besonders schädigend auf die Kulturpflanzen wirken kann?

Ueber das Verhältnis, in dem die beiden anderen mineralischen Nährstoffe (Kali und Phosphorsäure) von Hafer und Hederich aufgenommen werden, liefern zwei Analysen von Hederichstroh und Haferstroh, sowie Zahlen über die Zusammensetzung von Hafer- und Senfkörnern, diese letzteren entnommen den Wolfschen Tabellen, ein ungefähres Bild.

| | K ₂ O | | P ₂ O ₅ | | Proz. in der Tr. |
|---------------------|------------------|--------|-------------------------------|--------|------------------|
| | Stroh | Körner | Stroh | Körner | |
| Hafer | 0,22 | 0,55 | 0,10 | 0,79 | " " " " |
| Hederich resp. Senf | 0,28 | 0,68 | 0,24 | 1,70 | " " " " |
| Differenz | 0,06 | 0,13 | 0,14 | 0,91 | |

Also auch bezüglich des Kalis und der Phosphorsäure hat das Unkraut mehr, bei der letzteren das Doppelte, aufgenommen als der Hafer.

Da der Boden der Versuchspartellen aber 0,35 Proz. Kali und 0,43 Proz. Phosphorsäure — bestimmt durch Extraktion der Feinerde mit kochender konzentrierter Salzsäure — vor der Düngung aufwies, durch diese aber noch 36 kg löslicher Phosphorsäure und 40 kg Kali pro ha zugeführt erhalten hat, standen diese beiden Nährstoffe in Quantitäten zur Verfügung, daß eine stärkere Aufnahme derselben durch den Hederich keinen Einfluß auf die Entwicklung des Hafers gehabt haben kann.

Es bleibt noch zu untersuchen, welche Rolle der Kalk in der vorliegenden Frage spielt.

Grüner Hafer und Hederich in der Blüte, deren Stickstoffgehalt oben (p. 363) bereits mitgeteilt, enthielten in der Trockensubstanz:

1) Nach Risler und Colomb-Pradel genügt für einen Boden mit einem Stickstoffgehalt von nur 0,1 Proz. zu Weizen die Zuführung von $\frac{1}{8}$ — $\frac{1}{2}$ des in einer starken Weizenernte enthaltenen Stickstoffs. (Zitiert nach König, Untersuchungen landw. wichtiger Stoffe. 2. Aufl. p. 71.)

Nach Wagner, Düngungsfragen, 1887, p. 108, wird als mittlere Düngung für Hafer 25 kg N pro ha verlangt.

| | Asche Proz. | CaO Proz. | CaO Proz. der Asche |
|--------------|----------------|--------------|------------------------|
| grüner Hafer | 7,4 | 0,52 | 6,8 |
| Hederich | 11,6 | 2,23 | 19,1 |

Während der Stickstoffgehalt des Hederichs nur zweimal so groß war als der des Hafers, ist bei jenem Unkraut viermal soviel Kalk in der Trockensubstanz vorhanden als bei der Kulturpflanze. Die Senfpflanzen sind auch als kalkliebende bekannt.

Der Boden der Versuchspartellen enthält nun 0,61 Proz. Kalk — bestimmt als CaO durch Extraktion der Feinerde mit kochender konzentrierter Salzsäure; da nach Maerker¹⁾ für Lehmboden ein Kalkgehalt von 0,25—0,50 als normal zu gelten hat, ist der des vorliegenden Bodens bereits als ein guter zu bezeichnen. Da nun der Hafer nicht zu den Kulturpflanzen gehört, die hohe Kalkansprüche stellen, ist eine direkte Schädigung durch größere Kalkentnahme aus dem Boden seitens des Hederichs nicht anzunehmen.

Wohl aber liegt eine indirekte sehr nahe.

Die Stickstoffdüngung bestand in einer Ammoniakverbindung, die erst in Salpetersäure umgewandelt, nitrifiziert werden muß. Die dabei tätigen Mikroorganismen bedürfen aber reichlicher Kalkmengen, wie die bekannten Versuche Maerckers dartun, nach denen bei vorangegangener Kalkung die Düngung mit schwefelsaurem Ammoniak den doppelten Ertrag wie ohne dieselbe gab.

Wenn nun der rasch wachsende Hederich in ganz kurzer Zeit dem Boden solch beträchtliche Massen Kalk entzieht, so wird die Bodenflüssigkeit selbst bei sonst ausreichendem Kalkgehalt vorübergehend an gelösten resp. leicht löslichen Kalkverbindungen verarmen und damit der Prozeß der Salpeterbildung eine Störung erfahren. Dem Getreide muß aber die Hauptmenge des Stickstoffs in der — für Sommerung — kurzen Zeit vom Aufgang bis zum Schossen geboten werden. So nimmt nach Versuchen von Liebscher Gerste in den ersten drei Wochen, da sie erst 37 Proz. der gesamten Trockensubstanz gebildet, bereits 91 Proz. des überhaupt in die Pflanze eintretenden Stickstoffs auf²⁾.

Wenn in dieser kritischen Periode der Prozeß der Salpeterbildung stockt, die Pflanzen mithin auf den geringen Vorrat daran im Boden angewiesen werden und dazu noch ein stärkeres Aneignungsvermögen des Stickstoffs seitens des Unkrautes hinzukommt, so ist es durchaus verständlich, daß bei den von Hederich durchsetzten Haferpartellen II und IV ein Stickstoffmangel und ein so auffallendes Zurückbleiben der Haferpflanzen eintreten mußte.

Wird dann die Störung in der Nitrifikation überwunden, so kommt die Zufuhr von Salpeter für die Produktion an Trockensubstanz bei den Haferpflanzen zu spät und dient nur zur Erhöhung ihres prozentischen Stickstoffgehalts, wie aus den mitgeteilten Analysen zu ersehen ist.

Es erschien äußerst interessant, diese theoretisch gefolgerten Prozesse versuchsmäßig zu verfolgen. Der Weg, durch weitere Boden- und Pflanzenanalysen rein chemischer Natur eine Störung der Nitrifikation zu erweisen, erschien aussichtslos, wohl aber konnte man durch die Untersuchung der bakteriologischen Prozesse selbst ein greifbares Resultat erwarten.

1) Jahrbuch der agrikulturchemischen Versuchstation Halle, 1896.

2) Liebscher, Mentzel und Lengerkes landw. Kalender. 1887. p. 35.

Leider war Referent zu der betreffenden Zeit anderweitig zu sehr in Anspruch genommen, auch blieben ihm die Mittel zur Anstellung einer geeigneten Hilfskraft versagt, so daß jene interessanten Untersuchungen für 1904 unterbleiben mußten.

Es wurde daher eine Wiederholung des Versuchs unternommen und jene Parzellen I—IV in der Folgezeit 1904/05 genau in derselben Weise wie 1903/04 behandelt, mit derselben Düngung versehen und in gleicher Weise mit Hafer angesät.

Zum zweiten Male machte sich die Wirkung jener Besprengung von 1903 mit Eisenvitriollösung bemerkbar, indem sich auf Parzelle II und IV der Hederich reichlich einstellte, auf I und III in kaum nennenswerter Weise erschien.

Leider trat in diesem Frühjahr (1905) der Erdflöhe in außerordentlich starkem Maße auf, so vernichtete er überall in Ostpreußen die Wruken. Auf jenen Versuchspartzen beschädigte er die Hederichpflanzen in hohem Grade, daß sie bald ganz verschwanden; eine so erhebliche Beeinträchtigung der Haferpflanzen wie im Vorjahre konnte daher nicht erwartet werden. Dementsprechend fielen die Ernteerträge aus:

| | Hafer 1905, dz resp. kg | |
|---|-------------------------|------|
| | Stroh + Spreu | Korn |
| Mittel aus I und III, 1903 mit Eisenvitriol behandelt | 27,4 | 16,4 |
| „ „ II und IV, 1903 nicht behandelt | 25,4 | 16,4 |
| | Differenz | 2,0 |
| | | 0,0 |

Die Stroherträge von I und III kommen denen des Vorjahres nahe¹⁾, die Kornerträge sind etwas niedriger, da die Saatbestellung der andauernden Niederschläge wegen sich bis zum 1. Mai verzögerte. Die Mittelzahlen aus den gleichnamigen Parzellen zeigen dabei für Körner keinen, für Stroh nur einen geringen Unterschied von 8 Proz. zu Gunsten der gar nicht verunkrauteten Parzellen.

Bei genauer Betrachtung der Parzellen war jedoch während der ersten beiden Monate der Vegetationsperiode folgender Unterschied nicht zu verkennen. Einmal war der Wuchs der Haferpflanzen auf II und IV wiederum ein wenig niedriger, dann die Färbung derselben, besonders aus größerem Abstände, ebenso wie 1904 deutlich heller. Von Ende Juni verschwand die Erscheinung.

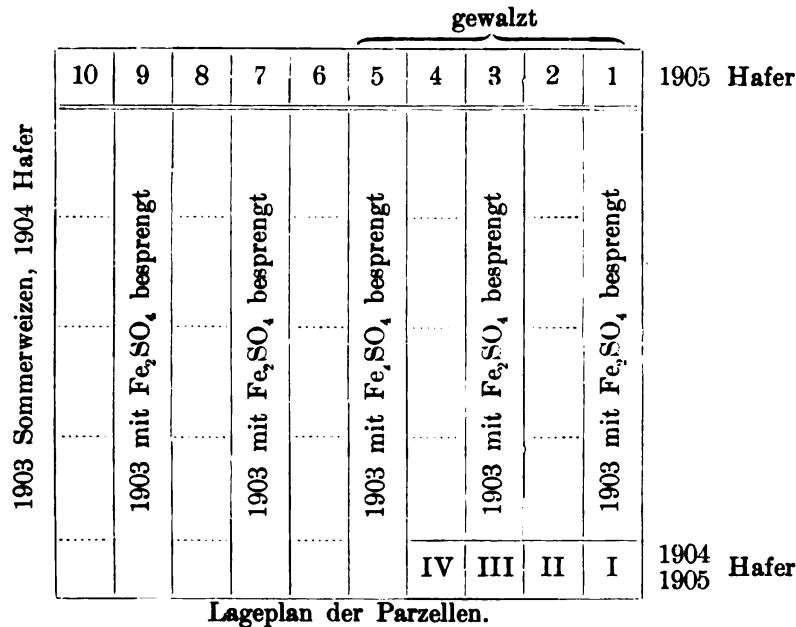
Die Frage, ob dieselbe auch in diesem Jahre eine Wirkung der geringfügigen Verunkrautung oder eine Nachwirkung der vorjährigen starken war, ließ sich zufälligerweise, wie folgt, entscheiden:

Das große, $100 \times 100 = 10000$ qm messende Feld war anschließend an den Randstreifen, auf dem jene Haferparzellen I—IV lagen, in weitere Streifen zerlegt, die eine Bestellung mit verschiedenen Feldfrüchten erhalten hatten. Der entgegengesetzte Randstreifen war 1905 auch mit Hafer und zwar nach derselben Düngung bestellt, nur mit dem Unterschiede, daß statt 40 Proz. Kali Kainit gegeben und die Aussaat doppelt so stark wie auf I—IV war. Nach der Eisenvitriolbesprengung vom Jahre 1903 zerfiel dieser Streifen in 10 Abschnitte, von denen 5 Eisenvitriol erhalten hatten (vergl. Zeichnung). No. 1—5,

1) Eine Nachwirkung des 1903 zur Düngung gegebenen schwefelsauren Ammoniaks für 1904 hat sich demnach nicht bemerkbar gemacht.

also die Hälfte dieser ganzen Reihe, war sofort nach der Saat mit einer Ringelwalze abgewalzt, No. 6—10 nicht.

No. 6, 8 und 10 zeigten nun ganz ebenso wie No. II und IV ein anfängliches Hederichwachstum und hellere Färbung der Haferpflanzen gegenüber den Parzellen mit ungerader Ziffer. Auf No. 1—5 ging der Hafer aber infolge der Ringelung so gleichmäßig und



dicht auf, daß jedes Hederichwachstum von vornherein unterdrückt wurde. Dennoch zeigten No. 2 und 4 deutlich dieselbe hellere Färbung wie 6, 8, 10 und II und IV.

Da auf den Parzellen No. 1—5 im Jahre 1905 alle Verhältnisse die gleichen waren, konnte folglich die hellere Farbe von No. 2 und 4 nur auf eine Nachwirkung der vorjährigen Verunkrautung zurückgeführt werden und dasselbe mußte daher auch für No. II und IV gelten.

Diese Beobachtungen ermutigten zu einer Untersuchung der bakteriologischen Vorgänge im Boden, wenn auch die diesjährige Hederichentwicklung so spärlich geblieben war.

Von der Methode die Zahl der Bakterien zu bestimmen, wurde als nicht aussichtsvoll Abstand genommen, dagegen konnte von dem chemisch-bakteriologischen Verfahren nach Remy — Einimpfen größerer Erdmengen in Nährflüssigkeiten und quantitative Bestimmung der Stickstoffumsetzung — mehr erwartet werden.

B. Bakterio-chemische Bestimmungen.

Bei dem gleichmäßigen Verhalten von Parzelle I und III, II und IV konnte es genügen, nur zwei Parzellen der Untersuchung zu unterwerfen. Es wurden No. III und IV gewählt, deren Bestand an Hafer und Hederich 1905 am gleichmäßigsten ausgefallen war.

Da es sich nicht um sorgfältig umgegrabene, sondern nur mit Pflug und Egge bearbeitete Parzellen handelte, wurde auf die Entnahme der Erdproben besondere Sorgfalt verwendet.

Benutzt wurde ein Erdbohrer, bestehend aus einem 30 cm langen und 4 cm im inneren Durchmesser fassendes Eisenrohr. Dasselbe ist der Länge nach in Centimeter eingeteilt, sein unterer Rand von außen nach innen zugeschärft; durch zwei Löcher am oberen Ende läßt sich ein Eisenstab stecken. Das Ganze gleicht also einem großen Korkbohrer.

Mit diesem Instrument wurden zwischen den Drillreihen des Hafers von 5 zu 5 m im Geviert 15 cm tiefe Erdproben ausgehoben, also 25 Bohrlöcher auf jeder der beiden Parzellen angelegt.

Die Probenahme geschah am 29. Juni, nachdem 2 Tage vorher stärkere Regengüsse den Boden durchweicht hatten.

Sämtliche 25 Bohrproben wurden dann sofort durch ein grobes Drahtsieb gerieben. Sie ließen sich dadurch trotz ihres Wassergehaltes von 20 Proz. so weit zerkrümeln, daß sie, nochmals durch das Sieb geschüttelt, eine vorzügliche Mischung des ganzen Quantum abgaben. Ca. 10 Proz., gleich $\frac{1}{2}$ kg, wurden dann sofort in einem verschlossenen Glase nach dem Laboratorium transportiert. Nach einigen Stunden wurde dann die ganze engere Probe durch ein 2 mm-Bodensieb gerieben und nochmals gründlich gemischt. Sofort erfolgte dann die Impfung der Nährflüssigkeiten.

Als Stammnährflüssigkeit diente nach Löhnis¹⁾ bereiteter Erdextrakt, versetzt mit 0,05 K_2HPO_4 ,

der zur Bestimmung der Fäulniskraft 1 Proz. Pepton Schering, der zur Bestimmung des Salpeterbildungsvermögens 0,1 Proz. Ammoniumsulfat + 0,5 Proz. $CaCO_3$,

der zur Bestimmung der Stickstoffassimilation 1 Proz. Mannit erhielt.

Es wurden jedesmal 100 ccm der betreffenden Nährlösung angewendet, und diese gefüllt in kugelige Kolben von 200 ccm Fassung, über deren nur 4 cm langen, glatt abgeschnittenen Hals eine ebenso lange Glaskappe gestülpt war. Diese Kolben waren statt der kegelförmigen Erlenmeyer-Kolben gewählt, weil es zunächst für notwendig erachtet wurde, die Temperatur von 20° C genau innezuhalten, aber kein Panum-Apparat, sondern nur ein Brutschrank nach Sartorius mit beschränktem Raum zur Verfügung stand.

Durch 4maliges Erhitzen wurden die gefüllten Kolben vollkommen steril, in den Peptonkolben bildete sich dabei ein Niederschlag. Die Impfung erfolgte mit je 12,0 g Erde, gleichzeitig erhielten die Nitrifikationskölbchen den sterilisierten kohlensauren Kalk. Für jede Bestimmung wurden 3—5 Parallelkolben angesetzt, dazu kamen die ungeimpften Kolben zur blinden Bestimmung, die, auch in den Brutschrank gebracht, während der ganzen Zeit des Versuchs steril blieben.

Damit bei der sommerlichen Temperatur die Regulierungsvorrichtung besser funktionierte, wurde durch den Wassermantel des Brutschrankes dauernd ein langsamer Wasserstrom aus der Laboratoriumsleitung geführt. Zur quantitativen Bestimmung der Umsetzungsprodukte wurden im Anschluß an Löhnis²⁾ folgende analytischen Methoden angewendet:

1) Die Peptonkölbchen wurden nach 5 Tagen in Meßkolben

1) Löhnis, Ein Beitrag zur Methodik der bakteriologischen Bodenuntersuchung. (Centralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. XII. p. 461.)

2) l. c. p. 455.

übergespült und auf 300 ccm aufgefüllt. Nach dem Absetzen der Erde wurden zweimal 100 ccm abpipettiert und das gebildete Ammoniak mittelst 2 g frischgeglühter Magnesia usta abdestilliert, in $\frac{N}{5}$ Schwefelsäure aufgefangen und mit $\frac{N}{5}$ Natronlauge zurücktitriert. Zur Destillation kamen Erlenmeyer-Kolben aus Jenenser Geräteglas, die üblichen Destillationsaufsätze und ein Liebig'scher Kühler zur Anwendung. Sowohl die Zeit als die Menge des Destillats wurde möglichst gleichmäßig innegehalten. Da die beiden aus jedem Gärungskolben stammenden Bestimmungen nur die üblich kleinsten Abweichungen voneinander zeigten, ist in der unten folgenden Tabelle I nur die Mittelzahl angegeben.

2) Zur Bestimmung der gebildeten Salpetersäure wurde nach 30 Tagen der Inhalt eines Gärungskolben in einen Erlenmeyer-Kolben aus Jenenser Geräteglas gebracht, zum Vertreiben des restierenden Ammoniaks mit 10 ccm 25-proz. Natronlauge versetzt und vorsichtig so lange erhitzt, bis das Flüssigkeitsquantum auf die Hälfte eingeengt war. Nach dem Erkalten erfolgt die Reduktion der Salpetersäure in saurer Lösung nach Ultsch¹⁾, indem 5 g Ferrum hydrogenio reductum und 15 ccm Schwefelsäure [2 Tl. konz. H_2SO_4 + 1 Tl. Aqua dest.] zugegeben wird. Unter ganz langsamem, nur allmählich verstärktem Erhitzen wird eine ziemlich lebhaftere Wasserstoffentwicklung unterhalten, bis die Flüssigkeit zu sieden beginnt, was ca. 5 Minuten dauert und an dem Abfließen des kondensierten Wassers von einer Kühlbirne zu erkennen ist. Die Destillation des gebildeten Ammoniaks erfolgt dann mittelst 25-proz. Natronlauge im übrigen wie unter 1.

3) Der Inhalt der Mannitkolben zur Bestimmung des assimilierten Luftstickstoffs wurde nach 30 Tagen in Kjeldahl-Kolben übergespült, mit 10 ccm Phenolschwefelsäure versetzt, durch Erhitzen ziemlich eingeengt, dann mit weiteren 30 ccm Phenolschwefelsäure und Quecksilber versetzt und nach Kjeldahl verbrannt. Das gebildete Ammoniak wie bei 1) bestimmt.

Die beim Anfang des Versuchs in der Erde und dem Erdextrakt vorhandene Menge von Ammoniak, Salpetersäure und Stickstoff insgesamt plus den aus der Luft während des Versuchs ohne Bakterientätigkeit aufgenommenen Mengen wurde in der Weise ermittelt, daß sterile Kolben mit der betreffenden Nährlösung dieselbe Zeit im Brutschrank belassen und dann der Gehalt an den Stoffen wie oben bestimmt. Das Gleiche geschah mit einem Quantum der Erde für sich. Aus den für die Nährflüssigkeit und die Erde erhaltenen Zahlen wurde dann der Gehalt an Ammoniak, Salpetersäure und Gesamtstickstoff berechnet, wie er in den mit 12 g Erde beimpften Kolben vor Beginn der Bakterientätigkeit vorhanden resp. ohne Bakterientätigkeit aus der Luft aufgenommen war und in Abzug gebracht.

Das Ergebnis der quantitativen Bestimmungen zeigen folgende Tabellen:

I. Peptonzersetzung. Dauer des Versuchs 5 Tage.

In 100 ccm Erdextrakt + 1 Proz. Pepton, geimpft mit 12 g Erde waren enthalten 175,4 mg Gesamtstickstoff, wovon abspaltbar durch Magnesia usta 2,42 mg,

1) König, Untersuchung landw. wichtiger Stoffe. 2. Aufl. p. 141.

so daß zur Ammoniakbildung $175,4 - 2,42 = 172,98$ mg übrig blieben. In gleicher Weise ist der Betrag von 2,42 mg von dem in jedem Kolben nach 5-tägiger Zersetzung gefundenen Ammoniakstickstoff abgezogen (Kolumne 1 und 2) und die restierende Zahl zu der Zahl 172,98 in procentuales Verhältnis gesetzt. In der 4. Kolumne findet sich die maximale Differenz, d. h. die Differenz zwischen den für die betreffenden Parallelbestimmungen ermittelten höchsten und niedrigsten Zahlen, berechnet in Prozenten der Mittelwerte.

| Erde von der | Parallele | Ammoniakstickstoff in 100 ccm | | | Maximaldifferenz |
|--|---------------------------|-------------------------------|----------------------------------|--------------|------------------|
| | | insgesamt mg | durch Umsetzung mg Proz. | | |
| Hederich- freien Parzelle | steril | 2,42 | — | — | } 7,66 Proz. |
| | a | 72,05 | 69,63 | 40,24 | |
| | b | 70,35 | 67,93 | 39,27 | |
| | c | 74,55 | 72,13 | 41,70 | |
| | d | 74,85 | 72,43 | 41,87 | |
| | e | 69,50 | 67,08 | 38,78 | |
| | mittel | — | 69,84 | 40,37 | |
| mit Hederich verunkrauteten Parzelle | steril | 2,42 | — | — | } 8,76 Proz. |
| | a | 70,35 | 67,93 | 39,27 | |
| | b | 74,85 | 72,43 | 41,87 | |
| | c | 69,70 | 67,28 | 38,89 | |
| | d | 75,85 | 73,43 | 42,45 | |
| | [e | 67,20 | 64,78 | 37,45] | |
| | mittel aus a—d | — | 70,27 | 40,62 | |

Die Stickstoffzahlen der einzelnen Kolben differieren um einige Milligramm — die letzte ist wohl zu streichen — und zwar stärker als bei Löhnis¹⁾. Die Mittelzahlen aus jeder Reihe unterscheiden sich aber nur um 0,43 mg = 0,25 Proz. der gebotenen Stickstoffe, d. i. 0,6 Proz. des mittleren Wertes, ein so geringer Betrag, daß demnach ein Unterschied im Fäulnisvermögen der beiden Böden nicht zu konstatieren ist.

II. Stickstoffassimilation. Versuchsdauer 30 Tage.

100 ccm + 1 Proz. Mannit, geimpft mit 12 g Erde, enthalten 38,60 mg Gesamtstickstoff.

| Erde von der | Parallele | Stickstoff insgesamt | Stickstoff assimiliert | Maximal- differenz |
|--|-----------|-------------------------|---------------------------|-----------------------|
| | | mg | mg | |
| hederich- freien Parzelle | steril | 38,60 | — | } 30,7 Proz. |
| | a | 43,78 | 5,18 | |
| | b | 44,29 | 5,69 | |
| | c | 42,75 | 4,15 | |
| | | Mittel | | 5,01 |
| mit Hederich verunkrauteten Parzelle | steril | 38,60 | — | } 24,7 Proz. |
| | a | 43,01 | 4,41 | |
| | b | 44,29 | 5,69 | |
| | c | 44,03 | 5,44 | |
| | | Mittel | | 5,18 |

1) Löhnis, l. c. p. 450.

Eine schwarze Decke mit Azotobakter¹⁾ trat in keinem Kolben auf, sondern nur Geruch nach Buttersäure und allmählich schwächer werdendes Schäumen. Die mikroskopische Besichtigung wies die Anwesenheit von Clostridien nach. Die für den Stickstoffzuwachs gefundenen Zahlen schwanken beträchtlich in den einzelnen Kolben, das Mittel dagegen ist für beide Böden fast gleich, da die Differenz nur 0,17 mg. d. i. 3,3 Proz., des mittleren Wertes ausmacht.

Ein Unterschied im Stickstoffassimilationsvermögen der beiden Böden ist demnach nicht vorhanden.

III. Salpeterbildung. Versuchsdauer 30 Tage.

Erdextrakt + 0,1 Proz. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + 0,5 Proz. CaCO_3 in kleineren Kugelkölbchen 100 ccm Nährlösung + 12 g Erde enthielten 21,54 Ammoniakstickstoff.

| Erde von der | Parallele | Salpeterstickstoff in 100 ccm | | | Maximaldifferenz |
|--|-----------|-------------------------------|--------------------|-------|------------------|
| | | insgesamt mg | aus Ammoniak mg | Proz. | |
| hederich-freien Parzelle | steril | 2,27 | — | — | } 32,8 Proz. |
| | a | 7,45 | 5,18 | 24,05 | |
| | b | 6,17 | 3,90 | 18,11 | |
| | c | 6,55 | 4,28 | 19,88 | |
| | d | 6,04 | 3,77 | 17,50 | |
| | Mittel | . | 4,28 | 19,98 | |
| mit Hederich verunkrauteten Parzelle | steril | 2,27 | — | — | } 33,2 Proz. |
| | a | 5,91 | 3,64 | 16,90 | |
| | b | 5,04 | 2,77 | 12,86 | |
| | c | 4,89 | 2,62 | 12,16 | |
| | d | 5,55 | 3,28 | 15,22 | |
| | Mittel | . | 3,08 | 14,29 | |
| | Differenz | | 1,20 | 5,69 | |

Die einzelnen Bestimmungen des Nitratstickstoffs jeder Reihe differieren beträchtlich, um rund 33 Proz. des Wertes; andererseits fallen sämtliche Parallelen für die verunkrautete Parzelle niedriger aus, so daß auch die Mittelzahlen sich deutlich unterscheiden. Es ist im Mittel 1,20 mg weniger Salpeterstickstoff gebildet, von den 21,54 mg gebotenen Ammoniakstickstoff ist also 5,69 Proz. weniger umgesetzt, was 33 Proz. des mittleren Wertes ausmacht.

Bezüglich das Salpeterbildungsvermögens unterscheiden sich also die beiden Böden um einen deutlicher erkennbaren Betrag.

Es fällt nun auf, daß die Nitrifikation in allen Kölbchen eine recht geringe gewesen ist; in seinen Untersuchungen über Verlauf der Stickstoffumsetzungen in der Ackererde gibt Löhnis²⁾ nach Bestimmungen gleich den obigen für dieselbe Jahreszeit eine Umsetzung von 38,17 Proz. des gebotenen Ammoniakstickstoffs an, während hier nur 19,98 Proz. auf der nicht verunkrauteten Parzelle in Salpeterstickstoff übergeführt sind.

Allerdings handelt es sich bei Löhnis um mit Kartoffeln bestellten Boden; ferner entnimmt derselbe die Erdprobe aus einer Schicht 8 bis

1) Löhnis, l. c. p. 454.

2) Löhnis, Untersuchungen über den Verlauf der Stickstoffumsetzungen in der Ackererde. [Habilitationsschrift.] Langensalza 1905. Tabelle VI. p. 100.

12 cm unter der Oberfläche¹⁾. Da die oberste Schicht der größeren Trockenheit halber und die tieferen der geringeren Lüftung wegen für das Gedeihen der Nitromonaden⁴ weniger günstig sein dürften als die mittleren, bei der Probenahme mit dem oben angegebenen Erdbohrer aber eine Mischprobe aller Schichten bis zu 15 cm Tiefe genommen wird, wäre es denkbar, daß mit den zur Impfung der Nährlösung kommenden Erdmengen dort mehr Nitromonaden in jeden Kolben kommen.

Am wahrscheinlichsten ließe sich aber die quantitativ niedere Salpeterbildung darauf zurückführen, daß bei Löhnis 50 ccm Nährlösung in einen kegelförmigen Kolben mit großer Bodenfläche von 300 ccm Rauminhalt, bei obigen Bestimmungen aber 100 ccm in kugelige Kölbchen von 200 ccm Fassung gefüllt waren, hier also die Luftzufuhr²⁾ bei wesentlich höherer Flüssigkeitsschicht erheblich geringer sein mußte. Um diesem Mangel etwas abzuwenden, waren die Nitrifikationskölbchen während des Versuchs alle 2 Tage für 1 Stunde aus dem Brutschrank entfernt und nach dem Abkühlen durch gleichmäßige rotierende Bewegung umgeschüttelt worden. Indessen scheint diese Behandlung keinen ausreichenden Erfolg erzielt zu haben.

In Rücksicht auf den Umstand, daß die beschriebenen bakteriochemischen Untersuchungen durch Erscheinungen veranlaßt worden, die wesentlich nur als Nachwirkung der starken vorjährigen Verunkrautung durch Hederich aufgefaßt werden mußte (cf. p. 11), erschien eine möglichst rasche Wiederholung der Nitrifikationsbestimmungen aussichtsvoll.

Es geschah dieselbe am 13. September, wenige Tage nach dem Schälen der Haferstoppel, in dem genau wie das erste Mal je 25 Bohraproben von Parzelle No. III und IV genommen wurde. Die Erde hatte ebenso rund 20 Proz. Feuchtigkeit. Als Nährflüssigkeit diente ein Teil desselben Erdextrakts, der in verschlossener Flasche aufbewahrt worden und erst vor dem Versuch mit 0,05 Proz. K_2HPO_4 und 0,1 Proz. $(NH_4)_2SO_4$ versetzt wurde.

Als Gärungsgefäße dienten aber Erlenmeyer-Kolben von 850 ccm Inhalt aus Jenenser Geräteglas, die zugleich den Vorteil boten, daß alle weiteren Manipulationen zur Ermittlung des gebildeten Nitratstickstoffs in ihnen ohne Umfüllen vorgenommen werden konnten.

Sämtliche Kolben — mit Watte verschlossen — wurden einschließlich derjenigen für die blinden Bestimmungen in einem dunklen Schrank bei einer Temperatur aufbewahrt, die ein Dauerbrandofen mit nur geringfügigen Schwankungen auf 20° C während der ganzen Versuchsdauer zu halten gestattete.

Bei der Ausführung der Analyse wurde mit der größten Sorgfalt verfahren, der größeren Genauigkeit wegen mit $\frac{N}{10}$ Alkali statt mit $\frac{N}{5}$ titriert; bei Ermangelung eines Kühlers aus Jenenser Geräteglas wurde gleiche Zeitdauer der Destillation und gleiches Quantum des Destillats eingehalten.

1) Löhnis, Untersuchungen etc. p. 15.

2) Schlösing und Müntz konstatierten bereits 1879 eine direkte Beziehung zwischen Oberflächenausdehnung der Lösung und Menge an produziertem Nitrat. (Vgl. Löhnis, Untersuchungen etc. p. 87.)

IV. Salpeterbildung. Versuchsdauer 30 Tage.

Erdextrakt + 0,1 Proz. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + 0,5 Proz. CaCO_3 in großen Erlenmeyer-Kolben. 100 ccm Nährlösung + 12 g Erde enthielten 21,54 mg Ammoniakstickstoff.

| Erde von der | Parallele | Salpeterstickstoff in 100 ccm | | | Maximaldifferenz |
|--------------------------------------|-----------|-------------------------------|-----------------|--|------------------|
| | | insgesamt mg | aus Ammoniak mg | Proz. | |
| hederich-freien Parzelle | steril | 2,40 | — | — | } 2,9 Proz. |
| | a | 11,27 | 8,87 | 41,97 | |
| | b | 11,53 | 9,13 | 42,39 | |
| | c | 11,53 | 9,13 | 42,39 | |
| | Mittel | . | 9,04 | 42,25 | |
| mit Hederich verunkrauteten Parzelle | steril | 2,40 | — | — | } 3,3 Proz. |
| | a | 10,21 | 7,81 | 36,26 | |
| | b | 10,34 | 7,94 | 36,86 | |
| | c | 10,08 | 7,68 | 35,65 | |
| | Mittel | . | 7,81 | 36,36 | |
| | Differenz | . | 1,23 | 5,89 = 14,6 Proz. des mittleren Wertes | |

Die oben ausgesprochene Vermutung ist also durchaus eingetroffen. In den ca. 5 mm dünnen Flüssigkeitsschichten der Erlenmeyer-Kolben ist die Lüftung so bedeutend gewesen gegenüber den Kugelkolben, in denen die Höhe der Nährlösung bis zu 35 mm betrug, daß sich das Quantum der gebildeten Salpetersäure mehr als verdoppelt hat¹⁾. Weiterhin ist ein Unterschied in dem Salpeterbildungsvermögen der Hederich-freien Parzelle gegenüber der verunkrauteten wiederum deutlich und regelmäßig zu erkennen; die Differenz ist sogar ganz dieselbe mit 1,23 mg = 5,89 des gebotenen Ammoniakstickstoffs wie oben. In Bezug auf die doppelt so hohe Menge des gebildeten Salpeterstickstoffs bedeutet jene Differenz aber nur halb so viel, nämlich 14,6 Proz. des mittleren Wertes.

Da der vorhandene Erdextrakt nur für je 3 Bestimmungen ausgereicht hatte, wurde der Sicherheit halber gleichzeitig am 13. September noch je eine Serie angesetzt, bei der statt Erdextrakt Nährlösung nach Omelianski²⁾ zur Anwendung kam.

(Siehe Tabelle p. 374.)

Auch diese Versuchsreihe ergibt eine deutlich erkennbare stärkere Salpeterbildung auf der nicht verunkrauteten Parzelle in allen Parallelkolben und zwar fast dieselbe Differenz der Mittelzahlen, nämlich

1) Daß bei diesen Bestimmungsreihen die Erde von frisch geschältem Boden entnommen, dürfte belanglos sein, da Löhnis entgegen sonstigen Annahmen keinen Einfluß des Doppelschälens auf die Nitrifikation feststellen konnte. Löhnis, Untersuchungen etc. p. 44.

2) 1 g Ammoniumsulfat
0,5 g Magnesiumsulfat
1,0 g Dikaliumphosphat
2,0 g Chlornatrium
0,4 g Ferrosulfat
1000 g destilliertes Wasser

0,1 g Ammoniumsulfat wurde verwandt, weil nach Löhnis (Centralbl. f. B. Abt. II. Bd. XII p. 455) die Salpeterbildung wesentlich rascher verläuft, als bei 0,2 Proz. Statt basischem Magnesiumcarbonat wurde hier, wie beim Erdextrakt, kohlensaurer Kalk zugesetzt, weil nach Löhnis die Verwendung des ersten

eine quantitative Bestimmung des gebildeten Nitrats unmöglich macht (Löhnis, Untersuchungen etc. p. 41.)

V. Salpeterbildung. Versuchsdauer 30 Tage.

Omelianskis Nährlösung + 0,5 Proz. CaCO₃ in großen Erlenmeyern.
100 ccm Nährlösung + 12 g Erde enthalten 21,14 mg Ammoniakstickstoff.

| Erde von der | Parallele | Salpeterstickstoff in 100 ccm | | | Maximal- differenz |
|--|-----------|-------------------------------|--------------------|---|-----------------------|
| | | insgesamt mg | aus Ammoniak mg | Proz. | |
| hederich- freien Parzelle | steril | 1,46 | — | — | } 4,6 Proz. |
| | a | 8,63 | 7,17 | 33,91 | |
| | b | 8,83 | 7,37 | 34,86 | |
| | c | 8,50 | 7,04 | 33,30 | |
| | Mittel | . | 7,19 | 34,02 | |
| mit Hederich verunkrauteten Parzelle | steril | 1,46 | — | — | } 5,5 Proz. |
| | a | 7,58 | 6,12 | 28,95 | |
| | b | 7,31 | 5,85 | 27,67 | |
| | c | 7,64 | 6,18 | 29,23 | |
| | Mittel | . | 6,05 | 28,62 | |
| Differenz | | | 1,14 | 4,60 = 17,2 Proz. der mittleren Werte. | |

1,14 mg Nitratstickstoff = 4,6 Proz. des gebotenen Ammoniakstickstoffes
= 17,2 Proz. der mittleren Werte.

Ein Vergleich der Tabelle IV und V zeigt ferner, daß alle Parallelen der ersteren durchweg einen höheren Wert für die Nitrifikation ergeben als die zweiten. Es genügt, die Mittelzahlen neben einanderzustellen.

| | Erdextrakt mg N | Omelianski-Fl. mg N | Differenz mg N |
|------------------------|--------------------|------------------------|-------------------|
| hederichfreie Parzelle | 9,04 | 7,19 | 1,95 |
| verunkrautete Parzelle | 7,81 | 6,05 | 1,76 |
| Mittel | 8,42 | 6,62 | 1,80 |

Die von Löhnis¹⁾ gemachte Beobachtung, daß nicht nur für die Peptonzersetzung und Stickstoffassimilation, sondern — wider Erwarten — auch für die Nitrifikation mit K₂HPO₄ versetzter Erdextrakt ein besseres Nährmedium ist als Flüssigkeiten, die gleich der Omelianskischen nur anorganische Salze enthalten, wird durch diese Zahlen aufs beste bestätigt.

Daß die gegen lösliche organische Stoffe so sehr empfindlichen Nitromonaden gegen die im Erdextrakt befindliche organische Substanz toleranter sind, ist seinerzeit schon von Winogradski und Omelianski²⁾ durch Versuche an Reinkulturen mit Nitratbakterien beobachtet. Danach verzögerte ein Zusatz von 33 Proz. Heuinfus zu einer anorganischen Nährlösung den Ablauf der Nitrifikation um 45, der von 33 Proz. Erdinfus nur um 1 Tag.

Auch wäre es nicht unmöglich, daß die Fäulnisbakterien, welche mit den 12 g Erde in großer Anzahl in die Nährflüssigkeit gelangen, begünstigt durch reichliche Luftzufuhr und Anwesenheit von Kalk, die organischen Stoffe in kurzer Zeit zerstören und so jeden störenden Einfluß beseitigen. Daß die dann übrig bleibende anorganische Bodenlösung in ihrer den natürlichen Verhältnissen besser angepaßten Zu-

1) Löhnis, Beitrag zur Methodik l. c. p. 463.

2) Centralbl. f. B. Abt. II. Bd. V. p. 188.

sammensetzung auf das Wachstum der Nitromonaden besser einwirkt als die künstliche, wäre damit verständlich. Die weitere Beobachtung von Löhnis, daß bei der Anwendung von Erdextrakt auch feinere Unterschiede in der Nitrifikation stärker hervortreten als bei der Omelianskischen Flüssigkeit, hat sich oben nicht gezeigt, da die Differenz der Mittelzahlen in Tabelle IV und V fast dieselbe ist. Doch gehört dazu gewiß, daß wie bei Löhnis ein besonderer Erdextrakt von jeder der zu vergleichenden Parzellen hergestellt wird. Bei den vorliegenden Bestimmungen ist zur Bereitung der Nährflüssigkeit zwar Erde von dem betreffenden Haferfeld genommen, derselbe Extrakt aber für beide Bestimmungsreihen in Anwendung gekommen.

Bei genauerer Betrachtung der Tabellen IV und V fällt ferner auf, daß die Parallelbestimmungen in jeder der 4 Reihen eine außerordentlich gute Uebereinstimmung zeigen. Die maximalen Differenzen betragen nur 0,33 mg, d. i. ungefähr 4 Proz. des mittleren Wertes. Wenn nun in beiden Tabellen die Mittelzahlen eine Differenz von 1,1—1,2 mg zeigen, gleich rund 16 Proz. des mittleren Wertes, so geht daraus einmal hervor, daß trotz der absoluten Kleinheit dieser Größe das Resultat unserer Versuche, wonach die hederichfreien Parzellen ein stärkeres Salpeterbildungsvermögen zeigen, ein völlig einwandfreies ist.

Parallelbestimmungen des Nitratstickstoffes mittelst der angegebenen Methode ergaben ferner bei ein und derselben salpeterhaltigen Substanz auch kein genaueres Resultat als bis auf 0,2—0,3 mg: die Abweichungen, welche also bezüglich der Umsetzung des Ammoniakstickstoffes in den mit verschiedenen Portionen derselben Erde geimpften Kolben durch einen eventuell verschiedenen Verlauf der Gärung hätte entstehen können, sind demnach so geringfügig gewesen, daß sie innerhalb der Fehler der chemischen Analyse fallen²⁾.

Die von Löhnis¹⁾ ausgeführten Nitrifikationsbestimmungen zeigen stärkere Differenzen, im Maximum 17 Proz. des Mittelwertes, fallen also

1) Buhlert und Fickendey verwenden zur Bestimmung der Salpetersäure im Boden [Landw. Versuchstationen. 1905. p. 240 Anm.] die Schlösingsche Methode (Reduktion der Salpetersäure in Stickoxyd), weil die Reduktion zu Ammoniak nach Ulsch zu kleine Werte ergibt, wenn man auf das zeitraubende Ausfällen der löslichen Humusstoffe verzichtet. So enthielten 500 ccm eines Bodenauszugs:

| nach Schlösing | nach Ulsch |
|----------------|-------------|
| 1) 4,32 mg | 1) 3,4 mg N |
| 2) 4,40 mg | 2) 2,9 mg N |

Nach Wahnschaffe (Anleitung zur wissenschaftlichen Bodenuntersuchung. 2. Aufl. p. 110) soll bei Anwendung der Wolfschen Methode (Reduktion der Salpetersäure durch Zink in alkalischer Lösung) allerdings der Wasserauszug der Erde, falls er braun gefärbt ist, mit Kalk behandelt werden, um die Humuskörper abzuscheiden. Ob dasselbe auch bei der Methode nach Ulsch (Reduktion in saurer Lösung) notwendig, entzieht sich der Beurteilung trotz der Angaben von Buhlert und Fickendey. Denn da sie nicht festgestellt haben, was der Bodenauszug unter Anwendung der Ulschischen Methode gegeben hätte, nachdem die Humuskörper ausgefällt, so muß dahingestellt bleiben, ob die von ihnen erhaltenen Differenzen auf die Handhabung beider Methoden oder die Anwesenheit der Humuskörper zurückzuführen sind.

Da zur Bestimmung des Salpeterbildungsvermögens beider Parzellen in vorliegender Arbeit derselbe Erdextrakt verwandt wurde, die Omelianskische Lösung keine Humusstoffe enthält bis auf die geringen Spuren, die mit 12 g Erde in jeden Kolben hineinkommen, wird der Wert der mitgeteilten Zahlen durch die eventuell zu niedrigen Angaben der Methode nach Ulsch nicht tangiert. Höchstens würde die Ueberlegenheit des Erdextrakts gegen Omelianskische Lösung noch größer werden.

2) Löhnis, Beitrag zur Methodik l. c. p. 456.

zwischen diejenigen unserer Tabelle III und IV resp. V. Dafür hat er bei der Peptonzersetzung, Harnstoffzersetzung und Stickstoffassimilation Parallelbestimmungen erhalten, deren maximale Differenzen nur 1,7 Proz. — 6,1 Proz. — 8,5 Proz. des mittleren Wertes betragen.

Die Gleichmäßigkeit, mit der sich die Umsetzungen des Stickstoffes in den mit Erde geimpften Kolben vollziehen und die Genauigkeit, mit der sie sich quantitativ bestimmen lassen, erfüllen also jeden berechtigten Anspruch. Demnach ergibt sich für die „bakteriochemische“¹⁾ Methode, wie sie Remy inauguriert und Löhnis weiter ausgebildet hat, ein glänzendes Prognostikon hinsichtlich ihrer Brauchbarkeit zur Lösung agrikulturbakteriologischer Fragen.

Die Erde der Haferparzellen enthielt, wie oben bemerkt, 0,61 Proz. Kalk — bestimmt als CaO in der Feinerde durch einstündiges Kochen mit konz. Salzsäure — eine Bestimmung der assimilierbaren Kalkverbindungen (Kochen von 50 g Feinerde mit 500 ccm 10-proz. Salmiaklösung unter dem Rückflußkühler und Bestimmung der CaO im Filtrat) ergab ziemlich denselben Wert. Da nun mit 12 g der feuchten Erde 0,059 g Kalk in 100 ccm Nährlösung eingeführt werden, zur Sättigung aller aus 0,1 Ammoniumsulfat freiwerdenden Schwefelsäure und zur Bindung aller eventuell gebildeten Salpetersäure zwar 0,1 g Kalk erforderlich wäre, in 30 Tagen aber im Maximum nur 50 Proz. des gebotenen Ammoniaks nitrifiziert werden, mußte die in 12 g Erde zugeführte Kalkmenge zur Neutralisation der freiwerdenden resp. entstehenden Säuren genügen.

Es wurde daher gleichzeitig mit den beiden anderen Reihen am 13. September ein Versuch ohne Zusatz von kohlen saurem Kalk angesetzt, da dies dem im Ackerboden befindlichen Kalkverhältnis mehr entsprach. Das Ergebnis war folgendes:

VI. Salpeterbildung. Versuchsdauer 30 Tage.

Omelienskische Lösung ohne Kalk, in großen Erlenmeyern.
100 ccm Nährlösung + 12 g Erde enthalten 21,14 mg Ammoniakstickstoff.

| Erde von der | Parallele | Salpeterstickstoff in 100 ccm | | | Maximaldifferenz |
|---|-----------------------|-------------------------------|---|----------------------|------------------|
| | | insgesamt mg | aus Ammoniak mg | Proz. | |
| hederich- freien Parzelle | steril | 1,45 | — | — | } 7,3 Proz. |
| | a | 4,94 | 3,48 | 16,46 | |
| | b | 4,74 | 3,28 | 15,51 | |
| | c | 4,94 | 3,53 | 16,70 | |
| | Mittel | . | 3,43 | 16,23 | |
| mit Hederich verunkrauteten Parzelle | steril | 1,45 | — | — | } 6,5 Proz. |
| | a | 4,28 | 2,82 | 13,34 | |
| | [b | 3,82 | 2,36 | 11,16] ¹⁾ | |
| | c | 4,47 | 3,01 | 14,24 | |
| | Mittel aus a und c | . | 2,91 | 13,79 | |
| Differenz | . | 0,52 | 2,44 = 16,7 Proz. des mittleren Wertes. | | |

1) Thiele, Centralbl. f. B. Abt. II. Bd. XIII. p. 556.

Der mit 12 g Erde zugeführte Kalk ist demnach nicht ausreichend gewesen, in den Kolben eine genügende Nitrifikation hervorzurufen. Sie ist auf die Hälfte wie bei Omelianskischer Lösung + Kalk herabgegangen, ähnlich wie beim Sauerstoffmangel in Tabelle III, es sind nur 15 Proz. des gebotenen Ammoniakstickstoffes nitrifiziert.

Interessanterweise zeigt auch unter diesen Umständen die Erde der hederichfreien Parzelle ein deutlich größeres Salpeterbildungsvermögen und zwar um 0,52 mg, der gebildeten Quantität entsprechend, so daß wir mit 16,7 Proz. denselben mittleren Wert wie in Tabelle IV und V erhalten.

Die bakteriochemische Untersuchung der beiden Böden hat also ergeben, daß die im Jahre 1904 mit Hederich verunkrautete Parzelle ein Jahr später dasselbe Fäulnisvermögen, dasselbe Stickstoffassimilationsvermögen, aber ein deutlich geringeres Salpeterbildungsvermögen aufweist als die 1904 von Hederich freie Parzelle.

C. Schlußbetrachtungen.

Der bakteriochemische Befund bestätigte die oben ausgesprochene Vermutung, wonach die starke Verminderung an Stroh und Korn auf den mit Hederich verunkrauteten Parzellen auf Stickstoffmangel und dieser auf eine Herabminderung der Nitrifikation zurückgeführt wurde. Gefolgert wurde diese letztere aus einer starken Aufnahme von Kalk und dadurch bewirkten Beraubung des Bodens an dieser für die Salpeterbildung wichtigen Substanz.

Es wurde nun nach dem positiven Ausfall der bakteriochemischen Untersuchung noch der Versuch gemacht, durch die chemische Analyse den Einfluß jener Kalkentziehung auf den Kalkgehalt des Bodens und der Ernteprodukte festzustellen.

Da konzentrierte Salzsäure und Salmiaklösung vom Boden zu viel Kalk aufnehmen, um feinere Unterschiede erkennen zu lassen, wurde als Lösungsmittel kohlenensäurehaltiges Wasser angewandt: 350 g wasserfreie Feinerde, stammend von den am 13. September 1905 genommenen Proben, wurden mit 1,5 l einer Mischung von 1 l reinem und $\frac{1}{2}$ l mit Kohlenensäure gesättigtem, destilliertem Wasser 5 Tage in verschlossenen Flaschen stehen gelassen, unter täglichem, vorsichtigem Rühren. Nach dem Absetzen wird die klare Flüssigkeit abgehoben und filtriert. Die Kalkbestimmung ergab:

| | | |
|---------------------------------------|---------|-----------|
| Erde von der Hederich-freien Parzelle | 0,067 | Proz. CaO |
| „ „ „ verunkrauteten | „ 0,068 | „ „ |

Trotzdem das kohlen-saure Wasser nur ca. 10 Proz. der Menge aufgenommen hat, wie die Salzsäure, läßt sich kein Erfolg der Kalkentnahme durch den Hederich feststellen.

Ebensowenig ergab die Analyse der grünen Haferpflanzen vom 29. Juli 1904:

| | | | | |
|---|--------|------|-----------|------------|
| grüner Hafer von der Hederich-freien Parzelle | 1904 | 0,43 | Proz. CaO | in der Tr. |
| „ „ „ „ verunkrauteten | „ 1904 | 0,43 | „ „ „ „ | „ „ |

1) Da von den 18 Salpeterstickstoffbestimmungen diese allein um einen größeren Betrag von den Parallelen abweicht, darf sie wohl gestrichen werden.

Eine rechnerische Ueberlegung wird dies Versagen der Analyse verständlich machen:

Auf der nicht verunkrauteten Parzelle ist 10 kg Hafer mehr geerntet, was bei einem Gehalt von rund 0,4 Proz. CaO ein Quantum von 40 g Kalk ergibt. Nimmt man an, daß diesem Defizit an Hafer auf der verunkrauteten Parzelle ein gleiches Quantum lufttrockenen Hederichs entspräche — es dürfte freilich viel weniger sein — so wird dazu bei einem Kalkgehalt von rund 2,00 Proz. 200 g Kalk erfordert. Mithin wäre der Hederichparzelle $200 - 40 = 160$ g Kalk mehr entzogen als der anderen. Auf 100 qm und bei einer Tiefe von 10 cm würde sich dies Quantum derart verteilen, daß der Kalkgehalt des Bodens um 0,0008, der der wasserfreien Feinerde rund um 0,001 Proz. Kalk weniger aufweisen würde, ein Betrag, der innerhalb der analytischen Fehlerquellen liegt.

Daß der Bodenauszug mit kohlensaurem Wasser, besonders nach einem Jahr, keine Differenz feststellen ließ, ist demnach verständlich.

Daß die höheren Pflanzen, deren Wurzeln bekanntlich Marmorplatten angreifen können, in ihrer Kalkaufnahme auf solch feine Unterschiede im Kalkgehalt nicht reagiert haben, ist ebenso verständlich. Wohl aber ist es möglich, daß die Bakterien der Ackererde, die auf den Kalkgehalt der Bodenlösung angewiesen sind, eine solche Beraubung desselben durch die Unkrautpflanzen schon als eine Beeinträchtigung empfinden, zumal es sich um solche Organismen wie die Nitrimonaden handelt, deren Leistung durch Kalkmangel in so starkem Maße geschädigt wird (vergl. Tabelle VI).

Wird also als Ursache der geringeren Nitrifikation der Hederichparzellen vorzüglich starke Kalkentnahme aus dem Boden durch dieses Unkraut zu gelten haben, so kann doch noch ein anderer Faktor auf das Salpeterbildungsvermögen eingewirkt haben, und der ist die Bodenfeuchtigkeit.

Es ist am Eingang dieser Arbeit die Beobachtung Wollnys angezogen, wonach die Bodenfeuchtigkeit verunkrauteter Parzellen um 2 Proz. niedriger war und die daran von ihm geknüpfte Bemerkung, daß die Menge der beim Zerfall der humosen Substanzen in den aufnehmbaren Zustand übergehenden Stoffe dadurch verringert werden muß. Nun scheinen die Nitromonaden außer gegen Sauerstoff und Kalkmangel auch gegen Wassermangel, besonders in tonigen Böden, empfindlich zu sein¹⁾. Starkes Transpirieren verunkrauteter Parzellen kann daher in einem Jahre, wie 1904, dessen abnorme Trockenheit bekannt ist, auf die Nitrifikation von Einfluß gewesen sein.

Es seien daher die Niederschlagsmengen dieses, des folgenden Jahres und der Normalzahlen, wie sie — auf dem Versuchsfelde werden meteorologische Bestimmungen leider nicht gemacht — der Direktor der Königlichen meteorologischen Station zu Königsberg, Herr Professor Kienast, freundlichst zur Verfügung gestellt hat.

(Siehe Tabelle p. 379.)

Die während der Monate Juni und Juli 1904 gefallenen Regengmengen bleiben also etwas, die des August erheblich gegen die normale Menge zurück. Doch kommt der letztere und wohl auch der Juli für die Stoffaufnahme seitens des Hafers kaum mehr in Betracht. Umgekehrt verhalten sich die Regengmengen im April und Mai.

1) Löhnis, Untersuchungen etc., p. 46.

Niederschläge in Millimetern.

| Tage | April | | | Mai | | | Juni | | |
|------------------------|--------|--------|--------|-------|-------|--------|-------|-------|--------|
| | 1904 | 1905 | Normal | 1904 | 1905 | Normal | 1904 | 1905 | Normal |
| 1—10. | 23,1 | 34,0 | 8,8 | 48,8 | 11,5 | 14,9 | 6,0 | 3,9 | 10,9 |
| 11—20. | 9,8 | 6,9 | 9,9 | 6,1 | 22,8 | 13,2 | 9,9 | 3,7 | 25,9 |
| 21—30/31. | 16,7 | 25,3 | 16,7 | 0,8 | 13,8 | 18,4 | 31,4 | 51,7 | 17,6 |
| Summe | 49,6 | 66,2 | 31,6 | 55,7 | 48,1 | 46,5 | 47,3 | 59,3 | 54,4 |
| Differenz gegen Normal | + 18,0 | + 34,6 | . | + 9,2 | + 1,6 | . | - 7,1 | + 4,9 | . |

| Tage | Juli | | | August | | |
|------------------------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | 1904 | 1905 | Normal | 1904 | 1905 | Normal |
| 1—10. | 11,0 | 23,8 | 18,2 | 47,8 | 46,0 | 42,5 |
| 11—20. | 18,1 | 40,1 | 25,8 | 17,6 | 24,1 | 23,3 |
| 21—30/31. | 27,4 | 31,0 | 26,6 | 5,7 | 61,4 | 34,3 |
| Summe | 56,5 | 94,9 | 60,6 | 71,1 | 131,5 | 100,1 |
| Differenz gegen Normal | - 4,1 | + 34,3 | . | - 29,0 | + 31,4 | . |

Während der wichtigen Periode vom 10. Mai bis 10. Juni tritt freilich eine Periode relativer Trockenheit ein, aber vorher und nachher sind zwei bis dreimal soviel Niederschläge als normal gefallen. Dazu kommt, daß Ostpreußen von der sonst allgemein in Deutschland auftretenden Hitze verschont blieb, die Temperatur häufig die Normale gar nicht erreichte, so daß auch während der Zeit geringer Niederschläge keine Dürre eintrat, namentlich nicht auf dem betreffenden Haferfelde, das die tiefste Lage der ganzen Versuchsfelder der Universität einnimmt.

Der Erfolg dieser nicht ungünstigen Witterung des Jahres 1904 zeigte sich allgemein für Ostpreußen, sowie auch für diese Abteilung des Versuchsfeldes in einer hinsichtlich der Quantität befriedigenden, der Qualität nach guten Ernte.

Die schädigende Wirkung einer stärkeren Transpiration der verunkrauteten Parzelle auf die Nitrifikation dürfte daher im Jahre 1904 nicht groß gewesen sein und nur einen geringen Anteil an der Depression des Enteertrages gehabt haben.

Im Jahre 1905 überstiegen die Niederschläge durchweg die normalen; sowohl im Juni als September hat der Boden eine genügende Feuchtigkeit, so daß die Proben beider Parzellen an beiden Terminen rund 20 Proz. Feuchtigkeit enthalten.

Eine Zusammenfassung aller Analysen — für deren exakte Ausführung ich den Herren Dr. Salecker und Dr. Salkowski zu Dank verpflichtet bin — und Erörterungen gibt nun folgenden Verlauf der Schädigung der Haferparzellen durch die Verunkrautung mit Hederich:

Der rasch wachsende Hederich hat 1904 der Bodenflüssigkeit größere Mengen von Kalk entzogen. Dadurch und vielleicht durch etwas größere Wasseransprüche hat er die Tätigkeit der Organismen der Salpeterbildung empfindlich gestört, die Umwandlung des spät eingestreuten schwefelsauren Ammoniaks in Salpetersäure gehemmt, dadurch die Pflanzen auf den Bodenstickstoff, soweit er aufgeschlossen und nitrifiziert war, angewiesen, weiter durch sein größeres Stickstoffbedürfnis auch diesen

Stickstoff stärker in Anspruch genommen, und dadurch denselben für die Haferpflanzen in das Minimum gebracht. Dem durch partiellen Nährstoffmangel gesteigerten Wasserbedürfnis der Haferpflanzen konnte nicht entsprochen werden, im Gegenteil hat ja die stärkere Transpiration des Unkrautes wahrscheinlich den Wassergehalt des Bodens noch etwas herabgesetzt. Die Folge muß also eine Minderproduktion an organischer Substanz sein: die Pflanzen bleiben leichter, das Schossen wird beeinträchtigt, der Stickstoffmangel verrät sich durch die bleiche Farbe. Wird dann allmählich ein Teil des Ammoniaks in Salpetersäure umgewandelt, den der reifende Hederich nicht mehr an sich reißt, so wird zwar der niedere Stickstoffgehalt des Hafers etwas erhöht, das Defizit an organischer Substanz aber nicht mehr eingeholt.

1905 wird der Hederich bald nach seinem Auftreten durch den Erdfloh vernichtet, resp durch dichte Saat und frühzeitiges Walzen am Aufgehen verhindert, kann also keinen nennenswerten Schaden anrichten; als eine Nachwirkung des Vorjahres muß daher die auch in diesem Jahr auftretende hellere Färbung aller Parzellen, welche im Vorjahre stark verunkrautet waren, erscheinen, desgleichen die auf Parzelle IV nachgewiesene niedrigere Nitrifikation.

Die Folgen dieser Nachwirkung sind nicht groß, zumal die Niederschläge des Jahres 1905 in allen Monaten übernormal sind, sie zeigen sich nur in einem etwas geringeren Strohertrage auf den Parzellen III und IV.

Es bleibt schließlich noch zu erörtern, wie man sich diese Nachwirkung der 1904 gestörten Nitrifikation bakteriologisch vorstellen soll, da sich doch das Fäulnisvermögen und das Stickstoffassimilationsvermögen, die 1904 durch Kalk- und Wasserentziehung auch beeinträchtigt worden sein dürften, im Jahre 1905 auf beiden Parzellen wieder ausgeglichen haben.

Einen Fingerzeig gibt vielleicht die kürzlich geklärte Anschauung über die Bildung des Nitrats im Ackerboden¹⁾: Nach den bisherigen klassischen Untersuchungen Winogradskys mußte der Prozeß der Nitrifikation in zwei zeitlich streng getrennte Phasen zerfallen, indem zuerst die Nitritbakterien das Ammoniak in salpetrige Säure, dann die Nitratbakterien, für die Ammoniak Gift ist, die salpetrige Säure in Salpetersäure umwandeln. Sterilisierte Erde mit beiden Arten von Nitrobakterien geimpft, ergab wechselnde Mengen von Nitrit und Nitrat, normale unsterilisierte Erde bei Zusatz von Ammoniak immer nur Nitrat allein. Es war nun unverständlich, wie die Nitratbakterien gedeihen und arbeiten konnten, solange noch eine Spur von Ammoniak vorhanden war. Nach neueren Untersuchungen hat sich nun ergeben, daß das Ammoniak zwar besonders schädlich auf die Entwicklung und Vermehrung der Nitratbakterien, aber unvergleichlich schwächer auf die oxydierende Tätigkeit der bereits vorhandenen Bakterienzellen einwirkt. Da nun der Ackerboden durch seine Kultur unter normalen Umständen eine große Menge hochgezüchteter Nitratbakterien enthält, wird jede Spur salpetriger Säure, die von den Nitritbakterien aus Ammoniak gebildet wird, sofort in Nitrat verwandelt²⁾.

1) Lafar, Handbuch der technischen Mykologie. Bd. III. p. 179.

2) Dadurch erklärt sich auch die vorzügliche Wirkung der Anwendung größerer Erdmengen bei den Nitrifikationsversuchen. Durch Einimpfen von 5 g Erde in 50 ccm

Wird aber durch besondere Umstände, wie Kalk- und Wasserentziehung der Gehalt des Ackerbodens an Nitratbakterien nach Quantität oder Qualität geschädigt, so dürfte es besonders bei reichlicher Anwesenheit von Ammoniak eventuell lange dauern, bis sich diese Schädigung wieder ausgeglichen hat.

Als Schlußfolgerungen ergeben sich aus vorstehender Arbeit:

I. Das Auftreten von Hederich kann durch einmalige Besprengung mit Eisenvitriol, die ihn am Samentragen hindert, unter Umständen auf Jahre hinaus unterdrückt werden.

II. Die Schädigung der Kulturgewächse durch ein Unkraut, wie den Hederich, erfolgt nicht nur durch Beschränkung der allgemeinen Wachstumsfaktoren und der gesamten Nährstoffe, wie sie sich Pflanzen derselben Art gegenseitig streitig machen, nicht nur durch einseitige Inanspruchnahme einzelner Faktoren und einzelner Nährstoffe, wie Wasser und Stickstoff, wodurch diese für das Kulturgewächs in das Minimum gebracht werden, sondern unter Umständen auch durch Beeinflussung des Bakterienlebens im Ackerboden in einem für die angebauten Pflanzen ungünstigen Sinne, so durch Störung der Nitrifikation durch Kalk- resp. Wasserentziehung.

Eine solche Störung kann eventuell für längere Zeit wirksam sein.

III. Die bakteriochemische Methode — quantitative Bestimmung der Umsetzungsprodukte in Nährlösungen, die mit größeren Mengen Erde beimpft sind — besitzt eine Zuverlässigkeit und Genauigkeit, die sie zur Lösung agrikulturbakteriologischer Fragen geeignet erscheinen läßt.

Die Anwendung von Erdextrakt als Nährlösung ist auch für die Nitrifikation derjenigen einer rein mineralischen vorzuziehen.

Nährlösung erhielt Löhnis in 30 Tagen doppelt soviel Nitrat als bei Anwendung von 0,1 g Erde (Beitrag zur Methodik etc. p. 453). Das vorhandene Ammoniak verhindert die Vermehrung der eingeführten Nitratbakterien, ohne ihre Tätigkeit zu hemmen. Je mehr Erde, desto mehr Bakterien, um so stärkere Nitrifikation und um so bessere Uebereinstimmung der Parallelbestimmungen.

Ein Paraffin zersetzender Schimmelpilz.

[Aus dem milchwirtschaftlichen Laboratorium des landwirtschaftlichen Instituts in Göttingen.]

Von Dr. **Otto Rahn.**

Viele Schimmelpilze vermögen Fettsäuren als einzige Kohlenstoffquelle zu benutzen. Die hierbei stattfindende chemische Umsetzung ist eine vollständige Oxydation ohne isolierbare Zwischenprodukte. Nur Schreiber¹⁾ beobachtete eine Zerspaltung des Oelsäuremoleküls in Buttersäure, sonst ist meines Wissens niemals ein ähnlicher Fall oder eine unvollständige Oxydation in der Literatur erwähnt.

Die großen Moleküle der unlöslichen Fettsäuren haben nach unseren heutigen Vorstellungen vom Bau der Moleküle große Aehnlichkeit mit den Kohlenwasserstoffmolekeln. Die Aehnlichkeit wird um so größer, je größer die Zahl der Kohlenstoffatome ist. Beide Stoffe haben die gleiche lange Kohlenstoffkette mit der gleichen Gruppierung der Wasserstoffatome, nur das endständige Kohlenstoffatom ist in einem Falle mit Sauerstoff und Wasserstoff, im anderen Falle allein mit Wasserstoff verbunden. Daher ist auch das physikalische und chemische Verhalten sehr ähnlich. Die große Resistenz gegen chemische Agentien, die Unlöslichkeit in Wasser, Löslichkeit in Alkohol, Aether, Petroläther, die Schmelzpunkte sind für beide Körperklassen gleich charakteristisch.

Es interessierte mich, zu wissen, ob die Zersetzbarkeit der Fettsäuren lediglich auf dieser einen Karboxylgruppe beruhte, und ich versuchte daher Organismen zu kultivieren, die Paraffin zersetzen. Zu meinem eigenen Erstaunen ist dieser Versuch mit Erfolg gekrönt worden.

Die Anhängungskulturen wurden in genau derselben Weise und mit derselben Lösung angelegt, die ich bei meinen Untersuchungen über die Zersetzung von Fetten²⁾ beschrieben habe.

Beim ersten Versuch waren die Paraffin-Mineralsalzkolben mit einer Rohkultur von fettspaltenden Mikroorganismen aus Erde geimpft. Während der ersten zwei Monate war keine Entwicklung bemerkbar, dann begann die Lösung sich zu trüben und leicht gelbbraun zu färben. Mit dieser Flüssigkeit wurden nun drei weitere Kolben I, II, III geimpft. Einer von diesen blieb offen der Luftinfektion ausgesetzt (III), ein anderer wurde nochmals mit der Haut von einer Rohkultur fettspaltender Organismen geimpft (II), während der letzte ohne weitere Impfung mit Watte verschlossen blieb. Diese Kulturen wuchsen bereits wesentlich schneller als die erste. In allen zeigte sich bald eine kräftige Entwicklung von *Penicillium glaucum*; außerdem waren im Paraffin einige gelbbraune Flecken in allen drei Vorversuchen bemerkbar; die Flüssigkeit war in III schmutzig gelbbraun.

Von diesen Kulturen wurden zwei weitere Serien geimpft, eine mit Paraffin vom Schmelzpunkt 56°, die andere mit Paraffin vom Schmelzpunkt 45°. Auf dem niedrig schmelzenden Paraffin entwickelten sich sowohl Bakterien wie Schimmelpilze besser; die Trübung der Flüssigkeit war bedeutend stärker als bei dem hochschmelzenden Paraffin. In allen Kolben war eine gelbe schleimige Auflage an der Grenze zwischen Luft,

1) Arch. f. Hyg. Bd. XLI. p. 328.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. p. 422.

Lösung und Paraffin sehr charakteristisch und das Schimmelwachstum trat hiergegen ganz zurück. Der gelbe Schleim bestand aus Kurzstäbchen.

Um nun festzustellen, ob dieses Wachstum durch Verunreinigungen des Paraffins hervorgerufen wurde, reinigte ich das Paraffin (56°) möglichst von allen eventuell vorkommenden Fremdstoffen. Das Paraffin wurde $\frac{1}{2}$ Stunde in absolutem Alkohol mit Kali gekocht, um vor allem Fette und Fettsäuren in Seifen zu verwandeln. Die heiße Lösung wurde zu dem gleichem Volum Wasser gegossen, so daß in dem warmen, 50-proz. Alkohol alle Seifen und niederen Kohlenwasserstoffe gelöst blieben. Das ausgeschiedene Paraffin wurde noch einmal in genau derselben Weise behandelt und dann aus Aether umkristallisiert. Das zuerst ausgeschiedene Paraffin (A) wurde auf dem Filter gesammelt, das Filtrat wurde trocken gedampft (B). Die mit diesen Paraffinpräparaten angelegten Kulturen wuchsen anfangs langsam; zuerst zeigte sich auf dem Paraffin B besseres Wachstum, doch glich sich der Unterschied später vollständig aus. Neben dem *Penicillium* trat ein kleiner *Mucor* auf, der kümmerlich wuchs, und ein Pilz, der das Paraffin hellbraun färbte. Außerdem entwickelte sich wieder das den gelben Schleim bildende Kurzstäbchen an der Wasserlinie des Paraffins in allen 6 Kulturen.

Bei allen diesen Versuchen sind verhältnismäßig große Paraffinmengen (3—10 g) verwandt worden, und es können daher auch beim gereinigten Paraffin Spuren von Verunreinigungen das Wachstum ermöglichen haben. Um zu konstatieren, ob wirklich das Paraffin die einzige Kohlenstoffquelle ist, wurden die Organismen der verschiedenen Kolben auf ganz kleine Paraffinblättchen von 10—50 mg geimpft, die in neutraler Mineralsalzammoniaklösung schwammen. Nach einem Monat war nur der Schimmelpilz, der von den braunen Paraffinflecken abgeimpft war, gut gewachsen; er hatte kräftiges weißes Mycel gebildet, dessen Sporenträger am Rande der Kolonie senkrecht in die Höhe wuchsen. *Penicillium glaucum* wuchs gar nicht, ebensowenig ein anderer Schimmelpilz; das gelbe Kurzstäbchen entwickelte sich sehr kümmerlich und wurde bald von einem kleinen *Mucor* unterdrückt, der aber ebenfalls nicht gut weiter wuchs. Ein Kölbchen blieb steril.

Von allen in den Anhäufungskulturen gewachsenen Organismen besaß also nur ein Schimmelpilz, eine *Penicillium*-Art, kräftiges Paraffinzersetzungsvermögen. Zum endgültigen Beweis, daß hier tatsächlich eine Paraffinzersetzung vorliegt, wurden quantitative Versuche angestellt. Bei Versuch I und II wurde Paraffin A, bei III und IV Paraffin B angewandt. Zwei weitere Versuche mit flüssigem Paraffin zeigten gar keine Schimmelentwicklung. Bei I und II war die Lösung ganz schwach sauer, bei II und IV ganz schwach alkalisch.

| | Angewendet | Zurück- gewonnen | Demnach verbraucht in 6 Wochen |
|------------|------------|---------------------|--------------------------------------|
| Paraffin A | I 12,3 mg | 0,8 mg | 11,5 mg |
| | II 9,8 " | 1,3 " | 8,5 " |
| Paraffin B | III 22,5 " | 0 | 22,5 " |
| | IV 8,1 " | 1,0 " | 7,1 " |

Der Schimmel war in I und III viel kräftiger gewachsen als in II und IV, bevorzugt also saure Reaktion des Nährbodens, obschon er auch in alkalischer Lösung wächst.

Mit einer größeren Paraffinmenge wurde ein ganz gleicher Versuch

angestellt. Die Paraffinblättchen schwammen in der Nährsalzlösung in halb gefüllten 3 Liter-Rundkolben. 7 Tage nach der Impfung war reichliche Mycelbildung auf jedem einzelnen Paraffinstückchen zu bemerken; nach 6 Wochen wurde das Paraffin mit Petroläther ausgeschüttelt. Die Kulturflüssigkeit wurde durch ein getrocknetes und gewogenes Filter filtriert, so daß die Pilzmasse bestimmt werden konnte.

| | Paraffinmenge | | Verbrauchtes Paraffin | | Gebildete Pilzmasse | Aschegehalt der Pilzmasse | Gebildete aschefreie organische Substanz |
|------------|------------------------|------------------------|-----------------------|------------|---------------------|---------------------------|--|
| | am Anfang des Versuchs | am Schluß des Versuchs | in mg | in Proz. | | | |
| Paraffin A | 877,0 mg | 182,8 mg | 694,2 mg | 79,1 Proz. | 597,9 mg | 239,0 mg | 358,9 mg |
| Paraffin B | 861,0 „ | 196,9 „ | 664,1 „ | 77,1 „ | 436,1 „ | 78,5 „ | 357,6 „ |

Die Zersetzung des Paraffins ist so stark, daß ein Irrtum ganz ausgeschlossen ist. Ein Unterschied in der Zersetzung der beiden Paraffinarten ist nicht erkennbar. Die Menge des zersetzten Paraffins sowie die Menge der gebildeten aschefreien Pilzmasse ist in beiden Versuchen annähernd gleich. Die große Differenz im Aschegehalt ist dadurch zu erklären, daß bei A die Gesamtflüssigkeit, in welcher unlösliche Phosphate sich befanden, zur Mycelmassebestimmung benutzt wurde, während bei B die Schimmeldecke zuerst im Scheidetrichter von der darunterstehenden Flüssigkeit mit den unlöslichen Salzen getrennt wurde.

In diesen Versuchen hatte sich ein hellbrauner, alkohollöslicher Farbstoff im Mycel gebildet, der bei den Kulturen mit ganz kleinen Paraffinmengen fehlte. Dieselbe Erscheinung habe ich bereits bei den fettsetzenden Schimmelpilzen gemacht.

Der Paraffin zersetzende Schimmelpilz ist eine *Penicillium*-Art. Er wächst auf gewöhnlichen Nährböden als weißer, üppiger Rasen. In Gelatine bildet er eine Unzahl kleiner Kristalle, die den Nährboden trüben. Auf Palmfettagar wächst er ebenfalls gut, dagegen kam er auf Palmfett in Mineralsalz-Ammoniaklösung nicht gut fort. Auf Stearinsäure in der gleichen Lösung wuchs er dagegen sehr kräftig und bildete 3 cm lange, sehr dünne Koremien. Gelbe Vaseline konnte er nicht zersetzen und auch auf weißer Vaseline gedieh er äußerst kümmerlich. Auf Paraffin bildete er große weiße Schüsseln dadurch, daß die Randpartien des schwimmenden Mycels kräftig in die Höhe wuchsen. Auf größeren Paraffinmengen entwickelte sich ein bräunlicher Farbstoff.

Daß übrigens Kohlenwasserstoffe in der organischen Natur gelegentlich vorkommen können, hat Schall¹⁾ bewiesen, welcher im Ameisenöl große Mengen von Undecan $C_{11}H_{24}$ fand. O. v. Fürth²⁾ hält dasselbe für einen Reservestoff, und demnach müßte die Ameise dasselbe wiederum verwerten können. Die Behauptung von Miyoshi³⁾, daß Schimmelpilze Paraffinmembranen mit Hilfe ihrer fettspaltenden Enzyme durchbohren, dürfte wohl auf einer Verwechslung von Fett und Paraffin beruhen.

1) Ber. d. d. chem. Ges. Bd. XXV. 1892. p. 1489.

2) O. v. Fürth, Vergleichende Physiologie der niederen Tiere.

3) Pringsheims Jahrbücher. Bd. XXVIII. 1895. p. 269.

Nachdruck verboten.

Neue heterözische Rostpilze.

Von Dr. F. O. Semádeni, Poschiavo-Graubünden.

[Vorläufige Mitteilung.]

1. *Puccinia Astrantiae vivipari* Sem.

Auf *Astrantia minor* L. lebt ein *Aecidium*, welches bis jetzt nur in Bondo (Graubünden) und am Bernina-Paß (Graub.) von mir beobachtet wurde. Es entwickelt seine Uredo- und Teleutosporen, wie Infektionsversuche es gezeigt haben, auf *Polygonum viviparum* L. *Polyg. bistorta* L. scheint in den Entwicklungskreis dieses Pilzes nicht zu fallen. Die Teleutosporen dieser neuen *Puccinia* ähneln, was die Form anbelangt, denjenigen der *Puccinia Cari vivipari* Karsten, sind aber größer als letztere.

Puccinia Astrantiae vivipari gehört zu jener interessanten Gruppe von heterözischen Rostpilzen, welche ihre sämtlichen Sporenarten einzig auf Vertretern aus der Reihe der Dikotylen bildet.

Jene Gruppe lautet nun vollständig:

- Puccinia Conopodii bistortae* Kleb.
- „ *Angelicae bistortae* Kleb.
- „ *Polygoni vivipari* Karsten.
- „ *septentrionalis* Juel.
- „ *Mei mammillata* Sem.
- „ *Angelicae mammillata*.
- „ *Polygoni amphibii* Pers. in Wint.
- „ *argentata* (Schultz) Wint.
- „ *Astrantiae vivipari* Sem.

2. *Uromyces Ranunculi distichophylli* Sem.

Das bis jetzt nur selten¹⁾ beobachtete *Aecidium* auf *Ranunculus parnassifolius* L. geht nach von mir ausgeführten Infektionsversuchen auf *Trisetum distichophyllum* (Vill.) Pal. über und bildet dort Uredo- und Teleutosporen, die zu einem *Uromyces* gehören.

Näheres über die beiden Pilze soll später mitgeteilt werden.

1) Pentes de la Dent de Morcches au fond de la montagne de Fully, Valais (Wilczek). — Südlicher Abhang des Sassalbo, bei Poschiavo, Graubünden (Semádeni).

Nachdruck verboten.

Apparat für die Kultur von Bakterien bei hohen Sauerstoffkonzentrationen, sowie zur Bestimmung der Sauerstoffmaxima der Bakterien-species und der Tötungszeiten bei höheren Sauerstoffkonzentrationen.

Von Universitätsprofessor Dr. Arthur Meyer in Marburg.

Mit 9 Textfiguren.

Die Kultur von Organismen in einer Atmosphäre von hoher Sauerstoffkonzentration wurde mehrfach ausgeführt; auch geeignete Apparate für die betreffenden Versuche sind beschrieben worden. Apparate und Methoden sind jedoch wenig bequem, teilweise auch wenig genau. Der Apparat, den ich beschreibe, gestattet eine leichte Herstellung beliebig hoher Sauerstoffkonzentrationen und andauernde Einwirkung der letzteren auf die Organismen. Er kann vorzüglich auch zur bequemen und exakten Bestimmung der Maxima der Sauerstoffkonzentration für Sporenbildung, Sporenkeimung und Wachstum der Bakterien und Pilze dienen, welche neben den Minima der Sauerstoffkonzentration, für deren Bestimmung ich früher (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XV. 1905. No. 10/11) einen Apparat beschrieben habe, gute Kennzeichen für die Bakterien-species abgeben können.

Der Apparat ist in meinem Laboratorium schon längere Zeit benutzt worden und hat sich durchaus bewährt. Bei der Beschreibung des Apparates gehe ich wieder auf die Details deshalb ein, weil ich wünsche, daß auch der Anfänger nach der hier gegebenen Beschreibung zu arbeiten im stande sei. Es soll auch diese Mitteilung gleichsam ein neues Kapitel meines „Praktikums der botanischen Bakterienkunde (Jena, Gustav Fischer, 1903)“ sein.

Der von mir konstruierte und verwendete Apparat besteht aus dem Druckraume und dem Preßgasapparate mit dem Verbindungsrohre.

A. Der Preßgasapparat.

Der erste Bestandteil desselben ist eine mit komprimierter Luft gefüllte Stahlflasche (*S*, Fig. 1), die mit einem Auslaßventil (*a*) verschlossen, versandt wird, vor dessen Ausströmöffnung eine Verschlußmutter (*k*, Fig. 2) geschraubt ist; eine Eisenkappe bedeckt das ganze Ventil. Die mit Preßluft gefüllte Stahlflasche liefert die „Sauerstoffabrik, G. m. b. H. Berlin N., Tegelerstraße No. 15. Sie enthalten ungefähr 10 l (das Fassungsvermögen ist in Liter Wasser auf jeder Flasche angegeben) auf 100—150 kg komprimierte Luft. Bei Benutzung schraubt man zuerst die große, das ganze Ventil schützende Eisenkappe ab, dann die Verschlußmutter (*k*, Fig. 2). An Stelle des letzteren schraubt man die Mutter des sogleich zu beschreibenden S-Automaten an.

Der S-Automat¹⁾ besteht aus folgenden Teilen (vergl. Fig. 1): 1) aus

1) Der hier beschriebene S-Automat für Arbeitsdrucke bis 15 Atmosphären ist von der „Sauerstoffabrik, G. m. b. H., Berlin N, Tegelerstr. No. 15“ bezogen. Die Fabrik fertigt auf Wunsch auch das aus Kupfer hergestellte Verbindungsrohr (*k*, Fig. 1) mit den Anschlußmutter. Es kann auch ein etwa teureres „Reduzierventil für 30 kg Arbeitsdruck“ geliefert werden, dessen Anschaffung (statt des hier beschriebenen) nötig ist, wenn man mit Drucken von 1 bis zu 25 Atmosphären arbeiten will, wenn man also den „Druckraum“ ganz ausnutzen will.

einem Röhrenfedermanometer *J*, welches als Inhaltsmesser für die Stahlfeder dient, 2) aus einem Röhrenfedermanometer *S*, welches den durch das Reduzierventil eingestellten Druck anzeigt, 3) aus dem eigentlichen Reduzierventil *R*, 4) dem Absperrhahn *h*, 5) dem Sicherheitsventil *s*.

Das Manometer *J* ist ein von Schäffer und Budenberg hergestelltes Manometer mit gebogener Schinzscher (Bourdon) Röhre. Letztere besitzt einen abgeplatteten Querschnitt, ist gekrümmt und an einem Ende geschlossen. Der Druck des komprimierten Gases wirkt

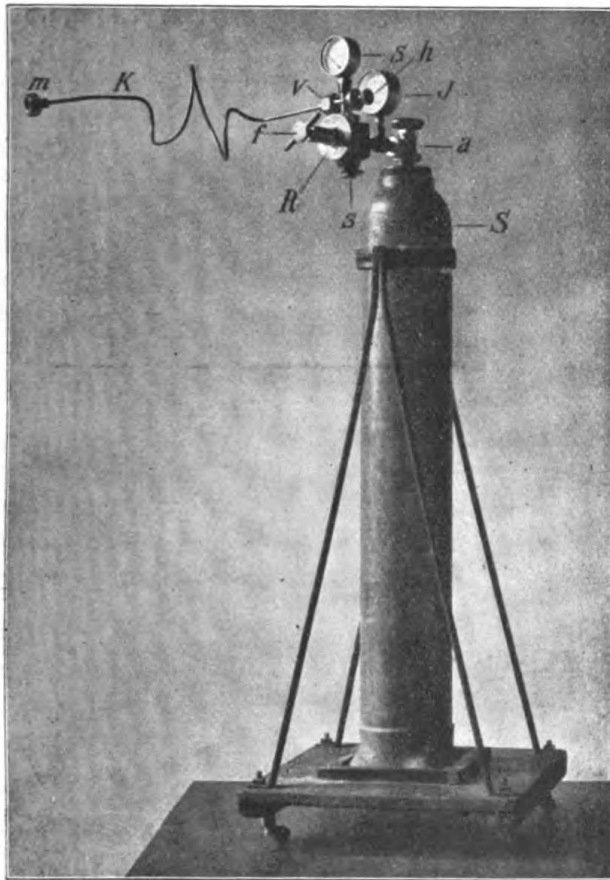


Fig. 1.

- Fig. 1. Preßgasapparat mit Verbindungsrohr.
 Fig. 2. Spitze der Stahlflasche mit Auslaßventil.
 Fig. 3. Schutzvorrichtung gegen Druckstöße.

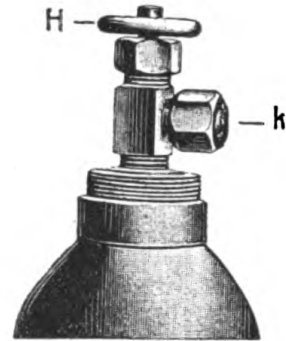


Fig. 2.



Fig. 3.

direkt auf das Röhreninnere und rollt die Röhre mehr und mehr auf. Das eine sich bewegende Röhrenende ist mit dem Zeiger verbunden. Im Eingangskanal des Manometers (ebenso bei Manometer *S*) befindet sich eine Schutzvorrichtung gegen plötzliche Druckstöße (Fig. 3.) Sie besteht aus einem eingesetzten Pfropfen mit kapillarer Bohrung, welche verhindert, daß bei schnellem Oeffnen des Ventils der Stahlflasche der Druck pistolenschußartig die Manometerfeder treffen und ein Platzen der Hohlfeder bewirken kann. Das Manometer ist bis zu einem Drucke

25*

von 200 kg geprüft, darf aber nur bis 150 kg gebraucht werden; seine Skala ist nach 10 kg Drucken geteilt. Nach der Angabe des Manometers berechnet man den Inhalt der Flasche an Liter Gas, indem man den durch das Manometer angezeigten kg-Druck mit der den Inhalt in Litern angegebenden Zahl, welche, wie gesagt, auf der Flasche steht, multipliziert. Beträgt der Inhalt der Flasche z. B. 11,5 l und zeigt das Manometer 80 kg, so sind $11,5 \cdot 80 = 920$ l Gas von Atmosphärendruck in der Flasche. Man kann so stets kontrollieren, wie viel Gas man noch in der Stahlflasche hat und kann rechtzeitig eine neue Stahlflasche mit komprimierter Luft bestellen.

Das Manometer S ist konstruiert wie das Manometer J, jedoch nur bis 150 kg Druck brauchbar und mit einer 1-kg-Skala versehen. Es gehört zum eigentlichen Reduzierventile.

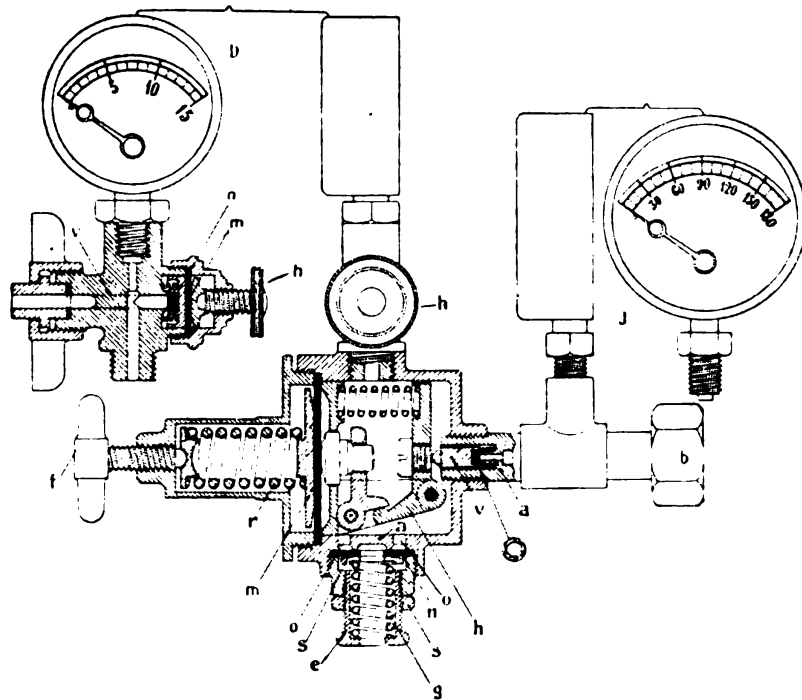


Fig. 4. Reduzierventil mit dem mit ihm gelieferten Manometer J und dem zu ihm gehörenden Manometer S.

Letzteres ist folgendermaßen konstruiert:

Es bedeutet in Fig. 4 *b* die Anschlußmutter des Reduzierventils an den Cylinder; *J* ist der Inhaltsmesser (das beschriebene Manometer *J*, Fig. 1); *a* ist die Entströmungsöffnung der Preßluft in das eigentliche Reduzierventil, *v* bedeutet das Abschlußorgan, welches mit einer kleiner Hartgummiplatte die Entströmungsöffnung *a* verschließt und welches durch das Hebelwerk *h* des Kastens betätigt wird. Je nach der Stellung dieses Hebelwerkes schließt oder öffnet *v* mehr oder weniger *a*, so daß die Luft in größerer oder kleinerer Quantität in den Kasten des Reduzierventils treten kann. Der Austritt der Preßluft aus einem kleinen Raum *a* in den großen Raum des Reduzierventils bedingt die Entspannung. Die Betätigung dieses Hebelwerkes *h* erfolgt durch Belastung der Feder *r*. Der Reduzierventilkasten ist durch die Membran *m* und den daraufgesetzten Deckel luftdicht abgeschlossen. Auf diese Membran *m*

drückt die Feder r , welche durch die Flügelschraube f eingestellt wird. Man sieht, daß, wenn man f nach rechts, also hineindreht, die Feder zusammengedrückt wird. Dadurch wird das Hebelwerk belastet, der Hebel h abgehoben und hierdurch kann v zurücktreten; es kann also mehr Preßluft durchtreten. Dreht man f nach links, entlastet man also die Feder, so wird auch die Membran entlastet, und die Feder des Hebelwerks im Innern des Kastens drückt den Hebel nach v zu, v wird angepreßt und a geschlossen. Es ist nun notwendig, daß, um Beschädigungen vorzubeugen, der Kasten des Reduzierventils durch ein Sicherheitsventil geschützt wird. Diesen Zweck erfüllt das Sicherheitsventil s , dessen Öffnungen verschlossen werden durch die Membran n , welche ihrerseits wieder durch die Feder g auf eine Metallplatte gedrückt wird. Die Entströmung der Preßluft findet nun durch ein Ventil statt, welches in der linken Ecke der Zeichnung ebenfalls im Querschnitt gegeben wird und welches auf dem gleichen Prinzip beruht, daß ein kleiner Ventilkegel durch die Membran m gedichtet wird und je nach dem Druck, unter welchem die Preßluft abströmt, sich abhebt und dadurch das Entweichen der Preßluft gestattet.

Benutzt man den Apparat, so stellt man das Reduzierventil zuerst auf den Druck ein, mit dem man im Kulturraum (Druckraum) arbeiten will. Es geschieht das in folgender Weise. Man schließt zuerst den Haupthahn der Stahlflasche (a , Fig. 1; H Fig. 2), öffnet den Absperrhahn h (Fig. 1), damit das Manometer S sich eventuell auf o einstellen kann und schließt den Hahn h dann wieder. Nun dreht man die Schraube f vom Reduzierventil so lange von rechts nach links heraus, bis man keinen Federdruck gegen die Schraube mehr fühlt (also fast völlig), damit sich das Ventil schließt, und öffnet nun den Haupthahn a der Stahlflasche. Hierauf dreht man die Hahnschraube f des Reduzierventils langsam ein, wodurch das Manometer D zu steigen beginnt. Zeigt es den gewünschten Druck an, so ist die Einstellung beendet. Das Gas wird also dann unter dem von dem Manometer S angezeigten Drucke so lange ausströmen, als noch Gasdruck genug in der Flasche herrscht. Hat man den Gasdruck eingestellt, so schließt man den Preßgasapparat durch das Rohr mKv an den Druckraum an.

B. Der Druckraum (Autoklav für Preßgase)¹⁾.

Der Druckraum ist ein für komprimierte Gase eingerichteter Autoklav. Er besteht aus dem Kulturgefäße (KRS , Fig. 5) und dem Deckel d , Fig. 5) und ist in einen gußeisernen Mantel (m , Fig. 6) eingesetzt. Der Mantel (m , Fig. 6) dient nur dazu, dem Apparate einen festen Stand zu geben; er wird mit 3 Schrauben (s) auf dem Tische festgeschraubt und besitzt zwei seitliche Ausschnitte (a), sowie 2 angeschraubte Lager (l), in die sich 2 an dem Kulturgefäße befindliche Zapfen fest einlegen. Der Druckraum ist für 50 kg Druck geprüft und eignet sich für Arbeitsdrucke bis 25 kg. Das im allgemeinen cylindrische Kulturgefäß (K , Fig. 5) ist aus Kupfer hergestellt, besitzt eine Höhe von 20 cm, oben (bei R , Fig. 5) einen äußeren Durchmesser von 15,5 cm, unten (bei K , Fig. 5) einen solchen von 13,5 cm und faßt 2000 ccm.

1) Der Druckraum ist nach meinen Skizzen und meinen genauen Angaben von den „Vereinigten Fabriken für Laboratoriumsbedarf, G. m. b. H. in Berlin N, 3 Chaussee-straße“ in vorzüglicher Ausführung hergestellt worden und von dort zu beziehen.

Oben am Kulturgefäße springt ein 3,5 cm breiter Rand (Fig. 5 und 6 *R*) zugleich nach außen und innen vor, so daß die Oeffnung des Cylinders bis auf 8,5 cm verengt wird. Die Oberfläche des Randes ist mit 4 Ringrillen versehen. Unter ihr sitzt ein dichter Eisenring (*E*, Fig. 5 und 6), in welchem der Stahlbügel *B* mit Zapfen drehbar befestigt ist. Der Bügel *B* trägt in der Mitte die Schraube (*S*, Fig. 5), die zum Festdrücken des Deckels dient. Der Deckel (*d*) besteht aus Phosphorbronze, ist oben gewölbt und mit einem 3,5 cm breiten, mit 4 Kreisrillen versehenen, sonst ebenen Rande ausgestattet (Fig. 5, *d*), an dessen Innengrenze ein Ringfortsatz (*f*, Fig. 5) sitzt, welcher dicht in die Oeffnung des Kulturraumes paßt. Durch den Deckel führen zwei fest eingelötete und unten noch fest verschraubte Röhren. Die eine trägt ein Sicherheitsventil (*V*, Fig. 6), welches wesentlich so gebaut ist, wie das des Preßgasapparates. Mit der hohlen Einstellschraube desselben (*e*, Fig. 4) wird die Spiralfeder *g* zusammen und gegen die Kautschukplatte *n* gepreßt, auf welcher das Messingstück *s*

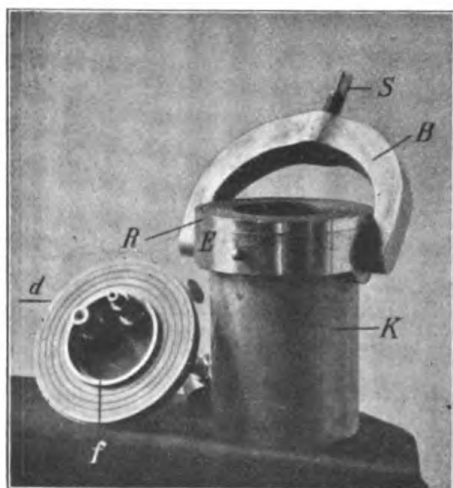


Fig. 5.

Fig. 5. Druckraum mit seinem neben dem Kulturgefäß liegenden Deckel *d*.

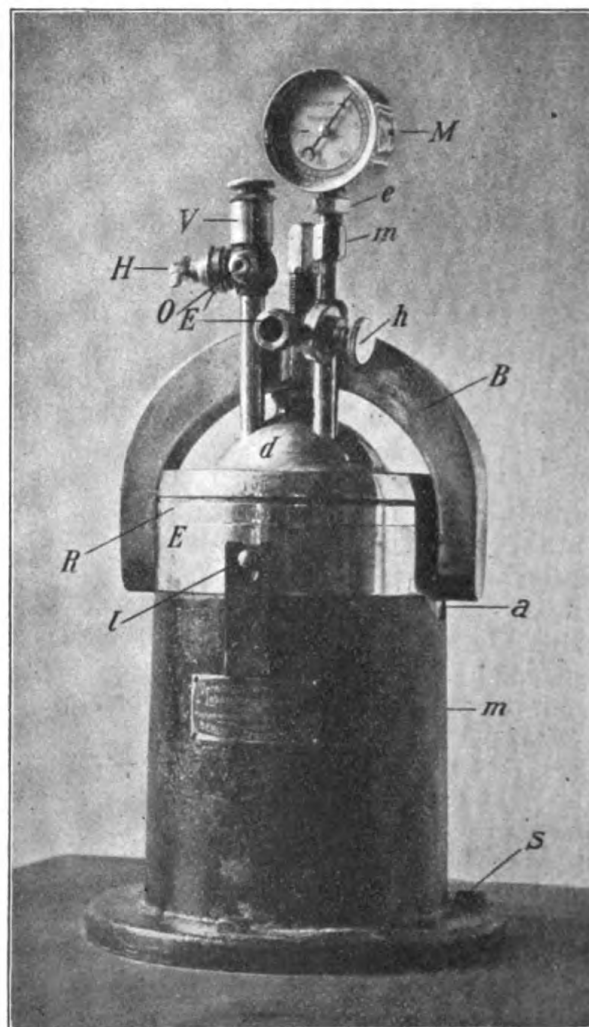


Fig. 6.

Fig. 6. Im Mantel stehender, geschlossener Druckraum.

aufliegt. Zur Feststellung der Schraube dient die Gegenmutter *s*. Die seitlich fest gefaßte Kautschukplatte *n* wird gegen eine Ringleiste *a* aus Messing gedrückt und so werden die Oeffnungen *o* geschlossen. Die durch die Kanäle *o* ausströmende Preßluft muß den Druck der Feder *g* überwinden, wenn sie ausströmen will, je mehr die Feder also durch Eindrehen der Schraube *e* angespannt wird, je höher wird der Druck im Kulturraum

werden, bevor sich das Ventil öffnet. Ferner trägt die gleiche Röhre einen die Ausströmöffnung *O* (Fig. 6) schließenden Absperrhahn *H*. Die zweite Röhre trägt ein stets mit dem Innenraum in offener Verbindung bleibendes Manometer *M* und den die Einlaßöffnung *E* verschließenden Einlaßhahn *h*. Die Konstruktion des Einlaßhahnes mag noch beschrieben werden, da es vorkommen kann, daß die Kautschukscheibe des Hahnes undicht wird und ersetzt werden muß. Fig. 7 stellt einen Längsschnitt durch die Teile des Hahnes dar. Das Stück *b* sitzt an dem Rohr *E'* (Fig. 6) seitlich an. Die Preßluft tritt durch ein Loch *l* ein, der Kanal *a* führt nach dem Kulturraume. *r* ist die Lederscheibe, welche beim Zuschrauben des Hahnes die Oeffnung *a* schließt; *k* ist eine Kautschukplatte, welche zwischen die Ränder *α* und *β* geklemmt wird, wenn die Kappe *d* über das Stück *b* geschraubt worden ist. Das Stück *Z* wird fest auf die Schraube *8* aufgeschraubt und dichtet dabei die Kautschukscheibe an der Schraube ab. Das Stück *δ* der Schraube *s* paßt in das Loch des Zwischenstückes *z* so, daß es sich leicht darin dreht. Zieht man die Schraube *s* an, so schließt man die Oeffnung *a*. Die Kautschukplatte *k* schließt dauernd den von ihr bedeckten Raum in *b* ab.

Das Manometer, welches dem Apparat beigegeben werden soll, ist gebaut wie das bei dem Reduzierventil beschriebene, besitzt einen Durchmesser von 6,5 cm und trägt eine in $\frac{1}{4}$ kg geteilte Skala. An das Rohr des Manometers ist ein Schraubengewinde geschnitten, an welchem oben ein 6-eckiges Messingstück *e* (Fig. 6) von 20,5 mm Durchmesser sitzt, das zum Fassen des Manometers mit dem Schraubenschlüssel

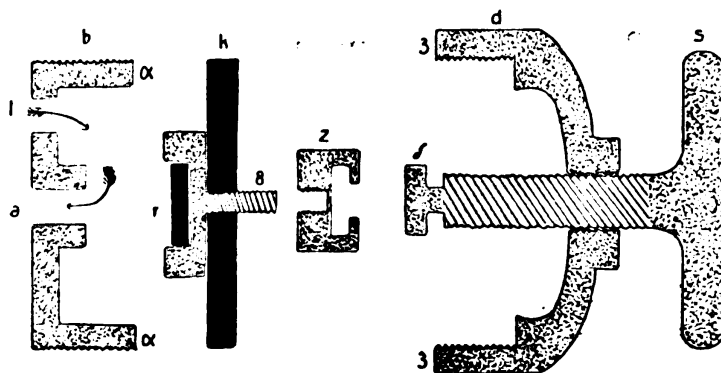


Fig. 7. Längsschnitt durch den Hahn *h* der Figur 6.

bestimmt ist. Das Gewinde des Rohres paßt in eine drehbar am Rande befestigte Mutter *m*. Soll das Manometer dicht aufgeschraubt werden, so legt man auf die Endfläche des Rohres des Manometers eine durchlochte Lederscheibe, faßt das Stück *e* mit einem Schraubenschlüssel, die Mutter *m* mit einem anderen und schraubt beide Stücke fest gegeneinander.

Dem Apparat müssen 3 Schraubenschlüssel hinzugegeben sein, je einer für *e*, *m* (Fig. 6) und *S* (Fig. 5).

Ueber die Dichtung des Apparates ist folgendes zu sagen. Beim Schließen des Kulturraumes durch den Deckel wird auf den Rand des letzteren (*d*, Fig. 5) eine ringförmige glatte Scheibe aus bestem Kautschuk gelegt, die genau so groß wie der Rand ist. Sie hat folgende Dimensionen: Aeüßerer Durchmesser 15,2 cm, Lochdurchmesser 8,8 cm, Ringleiste 3,2 cm, Dicke 4 mm. Die Fabrik des Apparates muß drei Scheiben beifügen, die man unter Wasser aufbewahrt.

Auch einige Gummischeiben für den Hahn *h* (Fig. 6) muß die Fabrik beifügen, da dieselbe nach längerer Zeit undicht werden kann. Man schraubt dann die Kappe *d* (Fig. 7) des Hahnes versichtig los (eventuell klemmt man sie dabei zwischen Holzfutter in einen Schraubstock ein) und legt eine neue in der Mitte mittels eines passenden Korkbohrers durchlochte Gummischeibe ein. Lederscheiben, welche zur Dichtung nötig sind, werden aus etwa 2,5 mm dickem Rindsleder mit passendem Locheisen ausgeschlagen, ein paar Tage zur Entfettung in Aether gelegt, dann in Wasser eingeweicht, mit Glycerin eingerieben und gut durchgeknetet, dann wieder mit Wasser gut abgewaschen. Fett darf zur Dichtung des Apparates, der auch hie und da mit komprimiertem Sauerstoff gespeist werden soll, nicht benutzt werden.

C. Manometer für relativ niedrige Drucke, welche nötigenfalls an den Apparat angebracht werden können.

a) Röhrenfedermanometer für Drucke unter 5 kg.

Das dem Apparate beigegebene Manometer ist für die meisten Versuche genügend genau. Zur größeren Sicherheit kann man es an die Physikalisch-Technische Reichsanstalt in Charlottenburg zur Prüfung schicken. Für feinere Messungen von Ueberdrucken bis zu 3 kg habe ich bei Schäffer und Budenberg G. m. b. H. in Magdeburg-Buckau ein Manometer herstellen lassen, dessen Gewinde nach dem des von mir eingesandten Manometers des Kulturraums geschnitten wurde. Das Röhrenfedermanometer besitzt einen Durchmesser von 60 mm, eine Schinzsche Röhre aus hartgezogener Metallkomposition, eine in $\frac{1}{10}$ kg geteilte Skala von 1—5 kg. Auf der Skala ist der Barometerstand und die Temperatur angegeben, bei welcher die Eichung des Instrumentes vorgenommen wurde. Die Physikalisch-Technische Reichsanstalt fand, daß dieses Manometer bei 1—2,4 kg 0,02 kg zu niedrig, sonst ohne Fehler anzeigt. Die abgelesenen Angaben des von der Firma vortrefflich ausgeführten Manometers werden ungefähr bis auf $\pm 0,04$ kg richtig sein, was für die biologischen Untersuchungen völlig genügt. Man darf das Manometer, wenn man die Feder schonen will, nur bis zu 3 kg gebrauchen.

D. Quecksilbermanometer zum Messen von Drucken bis zu 2 kg.

Zum Messen von Drucken zu ungefähr 1—2 kg bediene ich mich eines Quecksilbermanometers (der übrigens zugleich zum Messen von Drucken unter 1 kg Verwendung findet).

Der von mir konstruierte Apparat besteht aus einem Heberbarometer (*b*, Fig. 8) und einem Manometer (*M*). Beide sind auf einem Brett von 1004 cm Höhe, 23 cm Breite und 2,5 cm Dicke befestigt, in welches, als Unterlage für die Röhren Milchglasplatten eingelassen sind. Das Brett, an dem übrigens noch ein Lot (*l*) angebracht ist, ist senkrecht auf einem 4-eckigen, vorn 35 cm breiten, 4 cm dicken Brette befestigt, welches unten einen Stift und 2 Stellschrauben zum Senkrechtstellen des Apparates trägt.

Das Heberbarometer ist auf der Vorderseite und Rückseite korrespondierend in 0,5 mm geteilt, so daß das Ableseu äußerst genau mit bloßen Augen erfolgen kann. Die gleiche Art der Teilung auf Vorderseite und Rückseite, jedoch nur in 1 mm, besitzt das Manometer. Der

0-Punkt der Teilung liegt auf beiden Röhren unten, beim Ende der Milchglasplatte, das Ende der Teilung auf beiden Röhren oben bei 90 cm. Das Manometerrohr besitzt einen äußeren Durchmesser von 1 cm und eine Wandstärke von 1,5 mm. Wie man aus der Abbildung ersieht, ist oben an den rechten Schenkel des Manometerrohrs eine Kugel angeblasen, von der übrigens eine kleine Spitze mit 0,5 mm weiter Oeffnung in das Rohr hineinragt, die als Bremse dient und zugleich ein Widerlager für die mit echtem Blattgold gemischte Watte bildet, welche dicht in die Kugel eingefüllt ist. Das rechte Rohrende ist mit Siegelack in ein durchbohrtes Metallstück (*s*) eingekittet, in welches luftdicht gegen eine Lederscheibe das die lose Ueberschraubmutter *m* tragende Metallrohr eingeschraubt ist. In die Ueberschraubmutter paßt die gegen eine Lederscheibe zu schraubende Mutter eines Schlauchansatzes, an der ein biegsames Kupferrohr angelötet ist, welches vorn ein in die Mutter (*m*, Fig. 6) des Kulturraums passendes Gewindestück trägt. So kann also das Manometer luftdicht an den Kulturraum angeschlossen werden. Der ganze Apparat mit Barometer und Manometer ist von dem Herrn Universitätsmechaniker Rink im physiologischen Institut der Universität Marburg zu beziehen. Barometer und Manometer haben Dr. Siebert und Kühn, Kassel (Hohenzollernstr. 4) nach meinen Angaben geliefert.

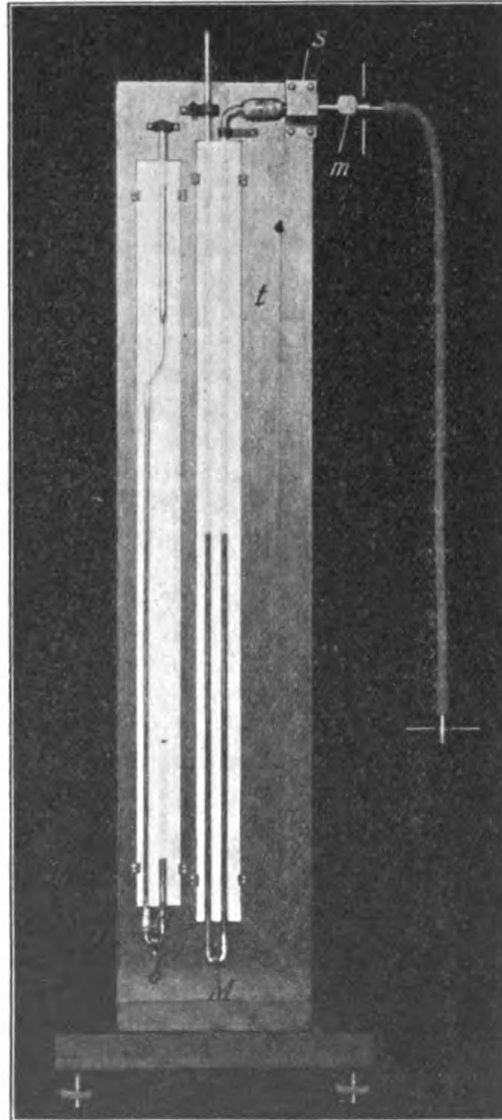


Fig. 8. Quecksilbermanometer für den Kulturraum.

E. Das Arbeiten mit den Apparaten.

Will man Bakterienkulturen etc. im Druckraume in komprimierter Luft wachsen lassen, so verfährt man folgendermaßen. Man stellt zuerst das Reduzierventil des Preßgasapparates auf den Druck ein, bei dem das Wachstum stattfinden soll, stellt dann die Kulturen in den Druckraum, dessen Boden man mit etwas Wasser bedeckt hat und legt den Deckel auf.

Dazu wird die vorher in Wasser getauchte Gummischeibe, wenn sie noch neu ist, am Rande mit einer Marke (einem sehr kleinen Ausschnitt

z. B.) versehen und so auf den Rand des Deckels aufgelegt, daß die Marke über der Zahl liegt, die sich am Rande des Deckels befindet. Der Deckel wird dann so aufgelegt, daß seine Zahl über der in den Rand des Kulturgefäßes eingeschlagenen Zahl zu liegen kommt. Man stellt hierauf den Bügel hoch und schraubt den Deckel mit der Schraube *S* (Fig. 5) fest. Es kommt nun darauf an, die Rillen in die neue Scheibe gut einzupressen, ehe man mit dem Apparat arbeitet. Das geschieht dadurch, daß man die Schraube so stark wie möglich anzieht, dann $\frac{1}{4}$ Stunde wartet, wieder anzieht und dasselbe 4—5mal wiederholt. Hierauf erst schraubt man den Preßgasapparat an, schließt den Absperrhahn *H* (Fig. 6), öffnet den Hahn *h* und läßt nun die Preßluft einströmen, bis das Manometer die gewünschte Druckhöhe anzeigt. Ist das geschehen, so schließt man *h*. Da das Reduzierventil auf den gewünschten Druck eingestellt ist, so kann dem Manometer *M* niemals durch zu starke Drucksteigerung vom Preßgasapparate her Schaden zugefügt werden. Ist der Gummiring erst älter, so daß Ringwälle in ihr eingedrückt sind, so hat man beim Auflegen des Ringes nur darauf zu achten, daß die Wälle in die Rillen kommen und die Marke am Ring über die Zahl zu liegen kommt und braucht auch die Schraube nur zweimal festzuziehen. Die Rillen verhindern das seitliche Herausgepreßtwerden der Gummischiebe völlig, wenn der Deckel gut aufgelegt und festgedrückt ist. Will man die Kulturen herausnehmen, so läßt man zuerst durch Öffnen des Hahnes *H* die Luft nur bis zu ungefähr 2—3 kg ab. Hat man Agar- oder Gelatinekulturen im Kulturraume, so muß man die Luft sehr langsam ablassen, da diese Nährsubstrate sonst von der in ihnen befindlichen, sich schnell ausdehnenden Luft zerrissen werden. Man dreht hierauf die Schraube *S* des Bügels vorsichtig ein klein wenig auf, damit der Innendruck den Deckel etwas abheben kann und läßt dann erst den Rest des Preßgases ausströmen.

F. Ablesung und Berechnung der Drucke und Sauerstoffkonzentrationen bei Benutzung von Preßluft.

Der im Druckraume herrschende Druck kann je nach Bedarf mit dem gewöhnlichen oder dem feinen Hohlfedermanometer oder dem Quecksilbermanometer gemessen werden.

Das bis zu 25 Atmosphären brauchbare gewöhnliche Hohlfedermanometer ist bei einem unbekanntem Barometerstande und bei unbekannter Temperatur geacht; annähernd zeigt es, wenn sein Zeiger auf 1 kg steht, bei 20°, 760 mm Quecksilberdruck + 1 kg Druck auf 1 qcm an. Vernachlässigen wir die relativ kleinen Fehler, welche durch die Temperatur- und Barometerstanddifferenz bei der Beobachtung und Aichung des Manometers entstehen, so können wir zur Berechnung der Konzentration des Sauerstoffs im Kulturraum (d. h. der Zahl der Milligr. Sauerstoff im Liter der im Kulturraum befindlichen Luft) folgende Formel benutzen:

$$\text{Milligr. Sauerstoff im Liter Luft} = \frac{20,9}{100} \cdot \frac{273 + 0}{273 + t} \cdot \frac{a + (k \cdot 735,5)}{760} \cdot 1,4292 \cdot 1000$$

In dieser Formel bedeuten:

k die am Manometer direkt abgelesenen Kilogramm (Ueberdruck), 20,9 Gehalt der atmosphärischen Luft an Sauerstoff in Volumenprozenten,

1,4292 Gewicht von 1 l Sauerstoff bei 0° und 760 mm Quecksilberdruck in Gramm für die geogr. Breite 45°;

t Temperatur des Gasgemisches im Druckraume zur Zeit der Ablesung von k;

735 die Höhe einer Quecksilbersäule in Millimeter, welche bei 0° auf den Quadratcentimeter einen Druck von 1 kg ausübt;

—273 Absoluter Nullpunkt;

a Barometerstand, bei dem das Manometer geaicht ist (für das gewöhnliche Manometer zu 760 angenommen).

Beispiel: t = 20
k = 15
(a = 760)

$$\frac{20,9}{100} \cdot \frac{273}{293} \cdot 1,4292 \cdot \frac{11792}{760} = 4,3182 \text{ g im Liter} = 4318 \text{ mg}$$

Für das feinere Manometer, welches wir nur bis zu 3 kg benutzen, ist der Barometerstand, bei dem die Aichung geschah, wie gesagt, 764 mm. Diese Zahl ist also für a einzusetzen. Bei 20° sind die Angaben dieses Manometers, wie gesagt, relativ richtig.

Die folgende Tabelle gibt die Konzentrationen (die Milligramme Sauerstoff im Liter) für verschiedene Drucke zwischen 2 und 20 kg und Temperaturen zwischen 17 und 28° C an:

| Abgelesener Ueberdruck kg | Temperatur der Luft im Druckraume | | | | | | | | | | | |
|------------------------------|-----------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | 17° | 18° | 19° | 20° | 21° | 22° | 23° | 24° | 25° | 26° | 27° | 28° |
| 2 | 824 | 821 | 818 | 816 | 813 | 810 | 807 | 804 | 802 | 799 | 797 | 794 |
| 3 | 1097 | 1093 | 1089 | 1086 | 1082 | 1078 | 1075 | 1071 | 1067 | 1064 | 1060 | 1057 |
| 4 | 1372 | 1368 | 1363 | 1358 | 1354 | 1349 | 1344 | 1340 | 1335 | 1331 | 1326 | 1322 |
| 5 | 1642 | 1636 | 1631 | 1625 | 1620 | 1614 | 1609 | 1603 | 1598 | 1593 | 1588 | 1582 |
| 6 | 1915 | 1908 | 1902 | 1895 | 1889 | 1883 | 1876 | 1870 | 1863 | 1857 | 1851 | 1845 |
| 7 | 2185 | 2177 | 2170 | 2163 | 2155 | 2148 | 2141 | 2133 | 2126 | 2119 | 2112 | 2105 |
| 8 | 2458 | 2449 | 2442 | 2433 | 2424 | 2416 | 2408 | 2399 | 2392 | 2384 | 2376 | 2368 |
| 9 | 2728 | 2718 | 2709 | 2700 | 2691 | 2682 | 2672 | 2663 | 2654 | 2646 | 2637 | 2628 |
| 10 | 3001 | 2990 | 2980 | 2970 | 2960 | 2950 | 2940 | 2930 | 2920 | 2910 | 2900 | 2891 |
| 11 | 3273 | 3262 | 3251 | 3240 | 3229 | 3218 | 3207 | 3196 | 3185 | 3175 | 3164 | 3154 |
| 12 | 3546 | 3534 | 3522 | 3510 | 3498 | 3486 | 3474 | 3464 | 3451 | 3439 | 3428 | 3416 |
| 13 | 3819 | 3805 | 3793 | 3780 | 3767 | 3754 | 3741 | 3728 | 3716 | 3704 | 3692 | 3679 |
| 14 | 4091 | 4077 | 4064 | 4050 | 4036 | 4022 | 4009 | 3994 | 3982 | 3968 | 3955 | 3942 |
| 15 | 4364 | 4349 | 4335 | 4320 | 4305 | 4290 | 4276 | 4261 | 4247 | 4233 | 4219 | 4205 |
| 20 | 5714 | 5694 | 5675 | 5655 | 5636 | 5617 | 5598 | 5578 | 5561 | 5542 | 5524 | 5505 |

Bei Benutzung des Quecksilbermanometers schraubt man also das Rohr des letzteren an Stelle des Federmanometers an, stellt das Reduzierventil möglichst genau auf den gewünschten Druck ein, schließt den Druckraum und läßt sehr langsam die Preßluft einströmen, bis das Manometer die gewünschte Höhe erreicht hat. Zur Feststellung der dann im Druckraum herrschenden Konzentration verfährt man folgendermaßen:

Man liest ab:

1) die Höhe der Quecksilbersäule des Barometers = b (also die am langen Schenkel abgelesene Zahl in mm (l), weniger der abgelesenen Zahl am kurzen Schenkel (k); l - k = b);

2) die Höhe der Quecksilbersäule (l' - k') des Manometers = m;

3) die Temperatur der Quecksilbersäule und der Preßluft im Druck-

raume (beide nach längerem Stehen des Apparates bei möglichst konstanter Temperatur) = t.

Wir finden nun die Länge der Quecksilbersäule, welche den Druck der Preßluft mißt, indem wir b zu m addieren. b + m nennen wir dann p^t. Wir reduzieren diese Länge p^t auf die Länge, welche die Quecksilbersäule bei 0° besitzt (= p⁰), nach folgender Formel:

$$p^0 = p^t (1 - 0,000181 t).$$

Haben wir die Zahl p⁰ festgelegt, so berechnen wir nach folgender Formel die Konzentration, für welche wir nur noch die Tension e des Wasserdampfes bei der Temperatur t aus den Tabellen von Landolt-Börnstein (Springer 1905. p. 118) entnehmen müssen, welche für einige Temperaturgrade angeführt sein mögen:

$$\text{Milligr. im Liter} = \frac{20,9}{100} \cdot \frac{273 + 0}{273 + t} \cdot \frac{p^0 - e}{760} \cdot 1,4292 \cdot 1000$$

Tension des Wassers (Spannkraft des Wasserdampfes über Wasser) in Millimeter Quecksilber bei 0° und normaler Schwere:

Beispiel:
 Barometer (l-k) = b = 760 mm
 Manometer (l'-k') = m = 50 mm
 Temperatur = t = 17° C
 b + m = p^t = 810 mm
 p^t (1-0,000181 t) = p⁰ = 807,5 mm
 e (bei 17°) = 14,45
 $\frac{20,9}{100} \cdot \frac{273 + 0}{273 + 17} \cdot \frac{807,5 - 14,45}{760} \cdot 1,4292 \cdot 1000$
 Im Liter mg = 293,4

- 16° C = 13,565
- 17° C = 14,450
- 18° C = 15,383
- 19° C = 16,367
- 20° C = 17,406
- 21° C = 18,503
- 22° C = 19,661
- 23° C = 20,883
- 24° C = 22,178
- 25° C = 23,546
- 26° C = 24,987
- 27° C = 26,505
- 28° C = 28,103

Tabelle für Drucke zwischen 760 und 1550 mm Quecksilber und Temperaturen zwischen 17 und 28° C.

| mm Hg. p ^t | Temperatur der Luft im Druckraume | | | | | | | | | | | |
|--------------------------|-----------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | 17° | 18° | 19° | 20° | 21° | 22° | 23° | 24° | 25° | 26° | 27° | 28° |
| 760 | 275 | 274 | 272 | 271 | 270 | 268 | 267 | 265 | 264 | 263 | 261 | 260 |
| 800 | 290 | 288 | 287 | 286 | 284 | 283 | 281 | 280 | 278 | 277 | 275 | 274 |
| 850 | 308 | 307 | 305 | 304 | 302 | 301 | 299 | 298 | 296 | 295 | 293 | 292 |
| 900 | 327 | 325 | 324 | 322 | 320 | 319 | 317 | 316 | 314 | 312 | 311 | 309 |
| 950 | 345 | 344 | 342 | 340 | 339 | 337 | 335 | 334 | 332 | 330 | 329 | 327 |
| 1000 | 363 | 362 | 360 | 359 | 357 | 355 | 353 | 352 | 350 | 348 | 347 | 345 |
| 1050 | 382 | 380 | 378 | 377 | 375 | 373 | 372 | 370 | 368 | 366 | 364 | 362 |
| 1100 | 400 | 399 | 397 | 395 | 393 | 391 | 390 | 388 | 386 | 384 | 382 | 380 |
| 1150 | 419 | 417 | 415 | 413 | 411 | 409 | 408 | 406 | 404 | 402 | 400 | 398 |
| 1200 | 437 | 435 | 433 | 432 | 430 | 428 | 426 | 424 | 422 | 420 | 418 | 416 |
| 1250 | 456 | 454 | 452 | 450 | 448 | 446 | 444 | 442 | 440 | 438 | 436 | 434 |
| 1300 | 474 | 472 | 470 | 468 | 466 | 464 | 462 | 460 | 457 | 455 | 453 | 451 |
| 1350 | 492 | 490 | 488 | 486 | 484 | 482 | 480 | 478 | 476 | 473 | 471 | 469 |
| 1400 | 510 | 509 | 507 | 505 | 502 | 500 | 498 | 496 | 494 | 491 | 489 | 487 |
| 1450 | 529 | 527 | 525 | 523 | 520 | 518 | 516 | 514 | 512 | 509 | 507 | 504 |
| 1500 | 548 | 546 | 543 | 541 | 539 | 536 | 534 | 532 | 529 | 526 | 524 | 522 |
| 1550 | 566 | 564 | 561 | 559 | 557 | 555 | 552 | 550 | 547 | 545 | 542 | 540 |

G. Arbeiten mit komprimiertem Sauerstoff.

Zuletzt kann man den Apparat statt mit Preßluft mit komprimiertem Sauerstoff speisen. Letzterer kann in Stahlflaschen von „Vereinigte Sauerstoffwerke G. m. b. H.“, Berlin N, Schlegelstr. 4, I, (Fernspr. III, No. 2284) bezogen werden. Er ist nicht rein und muß deshalb auf seine Zusammensetzung untersucht werden.

Es geschieht das in bequemer Weise mit der Gasbürette von B. Franke (Franke, Neue Gasbürette, Journ. f. prakt. Chemie, Leipzig, 1886), die von Greiner & Friedrichs in Stützerbach oder von Franz Schilling in Gehlberg i. Th., auch bei Desaga in Heidelberg bezogen werden kann. Ich gebe hier der Bequemlichkeit wegen gleich eine Abschrift der Beschreibung der Bürette von Franke.

„Diese Gasbürette hat folgende Konstruktion (siehe Fig. 9) und wird in nachstehend beschriebener Weise benutzt: Die Gasbürette besteht aus dem zur Aufnahme des Reagens dienenden Behälter *B* und dem Meßraume *A*, welche durch einen mit weiter Bohrung versehenen Hahn *b* miteinander verbunden sind; durch letzteren wird im Meßraume ein bestimmtes Gasvolumen abgeschlossen, während das offene Ende des Behälters *B* durch eine eingeschobene Kappe mit Hahn luftdicht abgeschlossen wird. Diese Einrichtungen (weite Hahnbohrung und Kappe mit Hahn) ermöglichen, daß mit einem Male viel Reagens ohne Saugen in den Meßraum eingebracht und daraus entfernt werden kann, womit auch gleichzeitig eine vollständige Ausnutzung des Reagens verbunden ist. Das freie Ende des Meßraumes wird durch einen einfachen Hahn abgeschlossen. Der 0-Punkt der Teilskala der Bürette liegt in der Hahnbohrung *b*. Der Inhalt des Meßraumes, inkl. Hahnbohrung *b*, beträgt genau 100 ccm. Die Füllung der Bürette mit dem zu untersuchenden Gase geschieht am einfachsten dadurch, daß man längere Zeit dasselbe durch diese Bürette hindurch leitet. Hat man dagegen nur ein kleines Gasquantum zur Verfügung, so verfährt man behufs Füllung der Bürette in der Weise, daß man zuerst dieselbe mit Wasser vollständig füllt, worauf dann die Kappe mit offenem Hahn eingeschoben wird, der sodann geschlossen wird. Man verbindet nun *d* mit der Gasquelle, öffnet *c* und läßt das Wasser bis in die Gegend von *m* abfließen, schließt Hahn *a* und taucht die Bürette in ein mit Wasser gefülltes Standgefäß so weit ein, bis das Wasser innen und außen gleich hoch steht, in welcher Stellung der Hahn *b* geschlossen wird. Man hat auf diese Weise ein bestimmtes Gasvolumen unter gewöhnlichem Luftdruck eingeschlossen. Nun wird die Kappe herabgenommen, das Wasser ausgegossen und Kalilauge eingefüllt, sodann die Kappe mit offenem Hahn eingeschoben, der dann geschlossen wird. Der Reagenzbehälter *B* darf nicht die kleinsten Luftbläschen enthalten. Man öffnet nun Hahn *b*, damit die Kalilauge nach *A* abfließen kann, schüttelt gut durch, stellt die Bürette in senkrechte Lage und wartet kurze Zeit, bis die Kalilauge den Reagenzbehälter *B* vollständig angefüllt hat. Sodann wird Hahn *b* geschlossen, die Kappe mit offenem Hahn herabgezogen und die Kalilauge ausgegossen. Man wäscht nun den Reagenzbehälter *B* mit Wasser gut aus, füllt ihn sodann in der angegebenen Weise vollständig mit Wasser und taucht die Bürette

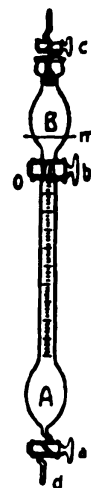


Fig. 9. Gasbürette von B. Franke.

in das mit Wasser gefüllte Standgefäß. Hierauf wird Hahn *b* geöffnet und bei gleichem Wasserstande die Anzahl Kubikcentimeter abgelesen, welche direkt die Volumprocente Kohlensäure angeben, die in dem zu untersuchenden Gase enthalten waren.

Ist eine Sauerstoff- und Kohlenoxydgasbestimmung des zu untersuchenden Gases vorzunehmen, so verfährt man in gleicher Weise wie bei der Kohlensäurebestimmung, natürlich unter Anwendung der entsprechenden Absorptionsflüssigkeiten.

Bezüglich der Kohlenoxydbestimmung ist noch zu erwähnen, daß man vor der Einbringung der Absorptionsflüssigkeit das Wasser, welches im Meßraume enthalten ist, mittels einer Saugflasche, wie bei der Bunte-schen Gasbürette, fortnimmt und hierauf, wie schon beschrieben, weiterarbeitet. Dieses einmalige Absaugen der Flüssigkeit hat den Zweck, daß man nach der Absorption des Kohlenoxyds die ammoniakalische Lösung von Kupferchlorür vollständig aus dem Meßraume entfernen kann. Man muß nun noch, bevor man abliest, das Gas mit dem auf die angegebene Weise eingebrachten Wasser gut durchschütteln, damit die kleinen Mengen Ammoniak, die sich stets verflüchtigen, von dem Wasser absorbiert werden“.

Die Untersuchung des in Rede stehenden Sauerstoffes ergab z. B. einmal folgende Zahlen: 96,7 Proz. Sauerstoff, 1,2 Proz. Kohlensäure, 2,1 Proz. nicht absorbierte Gase.

Will man mit diesem Sauerstoff arbeiten, so ist es zuerst nötig, den Druckraum genügend sorgfältig mit Sauerstoff auszuspülen, ehe man den Versuch beginnt. Man bringt das Reduzierventil auf die Sauerstoffflasche, stellt es auf den gewünschten Druck ein, bringt die Kulturen mit einer Schale von Kalilauge, welche die Kohlensäure absorbieren soll, in den Druckraum, schließt letzteren und verbindet ihn mit dem Reduzierventil. Man läßt nun erst einige Minuten lang langsam Sauerstoff durch den Druckraum hindurchströmen, schließt dann die Hähne und läßt den gewünschten Druck im Druckraume entstehen. Nach einigen Minuten öffnet man den Abschlußhahn und läßt den Sauerstoff bis auf einen sehr kleinen Rest austreten. Man wiederholt die Füllung und das Auslassen bei Drucken bis zu 10 kg dreimal, bei Drucken über 10 kg nur zweimal.

Bei Berechnung der Konzentration verfährt man so, wie früher gezeigt, nur setzt man statt der Zahl 20,9 (Gehalt der atmosph. Luft an Sauerstoff in Volumprozenten) den Gehalt des unreinen, aber von der Kohlensäure befreiten Sauerstoffes an reinem Sauerstoff in Volumprozenten (= *s*) ein.

Wendete man das gewöhnliche Hohlfedermanometer an, so würde man z. B. folgende Formel zur Berechnung benutzen:

$$\frac{s}{100} \cdot \frac{273 + 0}{273 + t} \cdot 1,429 \cdot \frac{760 + (k \cdot 735,5)}{760} \cdot 1000$$

Beispiel:

$$s = 97,8, k = 3, t = 17. \\ \frac{97,8}{100} \cdot \frac{273}{290} \cdot 1,4292 \cdot \frac{29665}{760} = 513,5 \text{ mg}$$

Nachdruck verboten.

Zur Methodik der bakteriologischen Bodenuntersuchung.

Von Prof. Dr. **Buhlert** und Dr. **Fickendey**, Königsberg i. Pr.

Remy¹⁾ hat vor einigen Jahren ein neues Verfahren zur bakteriologischen Bodenuntersuchung vorgeschlagen. Das Wesen dieser Methode besteht darin, daß eine Nährlösung von bestimmter Zusammensetzung mit einer bestimmten Bodenmenge geimpft und die Veränderung der Lösung nach Ablauf einer gewissen Zeit festgestellt wird. Die Größe dieser Veränderung dient bei vergleichenden Untersuchungen als Maßstab und gestattet auf den bakteriologischen Zustand des Bodens Schlüsse zu ziehen. Jene Methode ist inzwischen von anderen Forschern²⁾ benutzt und weitergebildet worden. Auch wir haben uns bei Untersuchungen über die Brache ihrer bedient, müssen aber bekennen, daß es uns trotz großer Sorgfalt nicht möglich gewesen ist, brauchbare Ergebnisse zu erzielen. Weder ergab sich bei Parallelversuchen eine befriedigende Uebereinstimmung, noch waren zwischen verschiedenen behandelten Parzellen deutliche Unterschiede zu erkennen. Die Mängel der Methode sind unseres Erachtens nach zwei Richtungen hin zu suchen. Einmal sind die Stickstoffmengen, die man durch die Impfung den Lösungen zuführt, bei Parallelversuchen recht verschieden. Z. B. ergab die Analyse von je 1 g desselben (frischen, feuchten) Lehmbodens folgenden Gehalt an Stickstoff: 0,63 mg, 0,84 mg, 0,99 mg, 1,72 mg, 1,32 mg. Solche Abweichungen behaften natürlich bei der Stickstoff-assimilation und besonders bei der Denitrifikation das Ergebnis mit großer Unsicherheit. Der Hauptfehler des Verfahrens liegt aber darin, daß die Impfmengen viel zu klein sind. Die Zusammensetzung und Virulenz der Bakterienflora kann in kleinen Mengen desselben Bodens recht erheblich wechseln, und erst bei Untersuchung größerer Bodenmengen wird man ein zutreffendes Bild des bakteriologischen Zustandes des Bodens gewinnen.

Um die angeführten Fehlerquellen nach Möglichkeit zu verstopfen, haben wir Remy's Methode etwas modifiziert und verfahren jetzt folgendermaßen: Zur Probenahme stellt man zunächst mit Hilfe eines gut gereinigten Spatens bis auf Furchentiefe eine Grube her, deren Seitenwand man senkrecht und glatt absticht, und entnimmt dann an dieser Stelle einen Spatenstich. Die obere Fläche kann mit einem an der Spiritusflamme sterilisierten, eisernen Spatel noch weiter durch Abkratzen gereinigt werden. Mit einem zweiten ebenfalls abgeflamten Spatel wird dann die Erde direkt in ein sterilisiertes Glasgefäß geschoben und zwar gleichmäßig aus allen Schichten der Ackerkrume. Die Gewichtsmenge der Probe beträgt nach Bedarf ca. 500—800 g. Von dieser Probe

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 657.

2) Wohltmann, Fischer und Schneider, Bodenbakteriol. u. bodenchem. Studien aus dem Versuchsfelde. (Journal f. Landwirtschaft Bd. III. p. 97.)

Ehrenberg, Die bakterielle Bodenuntersuchung etc. (Landw. Jahrb. Bd. XXXIII. 1904. p. 1.)

Löhnis, Zur Methodik der bakteriolog. Bodenuntersuchung I. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XII. 1904. p. 262.)

Dass. II. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XIV. 1905. p. 1.)

Ehrenberg, Stickstoffverluste in faulenden Peptonlösungen etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XV. 1905. p. 154.)

werden 300 bzw. 500 g — je nach der Zahl der später anzusetzenden Versuche — zu 300 bzw. 500 ccm sterilisiertes Leitungswasser gefügt und das Gemisch 5 Minuten lang gründlich durchgeschüttelt. Man benutzt dazu zweckmäßig ein Glasgefäß mit weiter Oeffnung und eingeschliffenem Stopfen. Unmittelbar nach dem Schütteln entnimmt man eine bestimmte Menge der Bodenaufschwemmung zur Impfung mit Hilfe einer Pipette, die zur Vermeidung von Verstopfungen einen weiten Auslauf haben muß. Vor jeder neuen Entnahme schüttelt man noch einmal kurz um. Bei der Nitrifikation und Stickstoffassimilation impfen wir mit 20 ccm, bei der Denitrifikation und Peptonspaltung mit 5 ccm der Bodenaufschwemmung. Diese Abänderung des Impfverfahrens scheint uns folgende Vorzüge zu besitzen: Einmal ermöglicht sie eine genügende Kontrolle der den Nährlösungen bei der Impfung zugeführten Stickstoffmengen. Zu diesem Zwecke bestimmt man in einem gewissen Teile der Bodenaufschwemmung, zweckmäßig in 20 ccm, den Stickstoffgehalt. Die Uebereinstimmung bei Parallelanalysen ist eine ziemlich gute. So fanden wir in je 20 ccm einer Leimbodenaufschwemmung aus demselben Gefäße: 11,79 mg, 11,90 mg, 12,02 mg, 12,05 mg N, bei der Analyse von 5 ccm der gleichen Aufschwemmung 3,78 mg, 3,82 mg, 3,88 mg, 3,91 mg N. Die Differenzen sind also weit kleiner, als wenn man mit Boden direkt impft.

Ferner bietet das Verfahren die Möglichkeit von einer vergleichsweise großen Bodenmenge auszugehen und man wird so hoffen können, ein annähernd getreues Bild der Bakterienflora im Boden zu erhalten.

Weiterhin wird eine Uebereinstimmung der Parallelversuche gewährleistet dadurch, daß man die Bakterien durch Aufschlemmen und Schütteln möglichst gleichmäßig verteilt und mit einer verhältnismäßig großen Menge impft. In den meisten Fällen wird man deshalb mit 3 Versuchen auskommen. Daß die Impfmenge so hoch bemessen ist, bedarf keiner Rechtfertigung. Je größer die Impfmenge ist, um so mehr wird man sich dem Durchschnitte der Bakterienflora nähern und um so größer wird die Unabhängigkeit von Zufälligkeiten bei der Impfung.

Schließlich hat die Methode an Bequemlichkeit gewonnen, da an die Stelle der mühsamen Wägung eine einfache Volummessung mit der Pipette getreten ist, ein nicht zu unterschätzender Vorzug, wenn es darauf ankommt, eine größere Anzahl von Versuchen zu möglichst gleicher Zeit anzusetzen.

Im folgenden wollen wir einige Versuche wiedergeben, die einerseits das Ziel hatten, die angegebene Aenderung des Impfverfahrens zu erproben, die andererseits den Einfluß der Durchlüftung auf das Bakterienwachstum oder richtiger auf die Remyschen Bodenreaktionen feststellen sollten. Zu diesem Zwecke wurden im Herbst 1905 von verschiedenen Bodenarten ungefähr 3 qm ca jeden zweiten Tag auf Spatenstichtiefe umgegraben. Nach Verlauf von 14 Tagen wurde von der durchlüfteten Erde und in der Nachbarschaft von unbearbeitetem Boden Proben genommen, die zur Untersuchung verwendet wurden.

1. Die Peptonspaltung.

Als Nährboden kam eine 1½-proz. Lösung von Pepton in Leitungswasser zur Anwendung. 10 ccm dieser Lösung wurden mit 5 ccm Bodenaufschwemmung geimpft, so daß also schließlich eine 1-proz. Lösung vorlag. Die Versuche wurden in Reagenzgläsern bei 25° C angestellt.

Nach 4 Tagen wurde der gesamte Inhalt der Gläser in Kolben übergeführt und das abgespaltene Ammoniak mit Magnesia usta abdestilliert. Um das lästige Schäumen bei der Destillation zu vermindern, empfiehlt sich der Zusatz von etwas Alkohol, noch wirksamer sind ein paar Tropfen Paraffin. Das Ergebnis war folgendes:

| | mg Ammoniak-N | | | | Mittel |
|-------------------------------------|---------------|------|------|------|--------|
| 1) Sandboden, unbearbeitet | 10,1 | 10,3 | 10,1 | 10,5 | 10,2 |
| 2) " durchlüftet | 10,5 | 9,5 | 9,5 | 9,9 | 9,8 |
| 3) Humoser Boden, unbearbeitet | 11,2 | 11,7 | 11,5 | — | 11,5 |
| 4) " durchlüftet | 10,5 | 10,8 | 10,2 | 10,1 | 10,4 |
| 5) Kalkhaltiger Boden, unbearbeitet | 10,0 | 10,3 | 11,2 | 11,3 | 10,7 |
| 6) " durchlüftet | 10,1 | 10,6 | 9,6 | 9,8 | 10,0 |
| 7) Lehmboden, unbearbeitet | 9,5 | 9,8 | 9,8 | 9,9 | 9,7 |
| 8) " durchlüftet | 9,0 | 9,1 | 8,8 | 8,9 | 8,9 |
| 9) Gartenerde, unbearbeitet | 11,2 | 11,8 | 11,5 | 11,3 | 11,45 |
| 10) " durchlüftet | 10,2 | 10,2 | 10,3 | 10,9 | 10,40 |

Aus der Tabelle ergibt sich wider Erwarten, daß der durchlüftete Boden weniger Ammoniak abgespalten hat. Im Zusammenhange damit steht vielleicht die von uns beobachtete Tatsache, daß auch gebrachter Boden (Schwarzbrache) während des Sommers eine geringere Fäulniskraft entwickelt als bestellter Acker. Z. B.:

| | | | | | |
|----------|-----|-----|-----|-----|------|
| Brache | 5,8 | 5,7 | 6,0 | 5,6 | mg N |
| Bestellt | 8,3 | 8,7 | 8,8 | 8,6 | " " |

Man könnte daran denken, daß die durch Durchlüftung begünstigten aëroben Bakterien unter den Versuchsbedingungen, die ja ziemlich anaërob sind, schwer zur Entwicklung gelangen, indessen trifft bei der Brache die Vermutung nicht zu. Gebrachter Boden spaltete auch dann weniger Ammoniak ab, wenn die Peptonlösung in ganz flacher Schicht (Erlenmeyer-Kolben) zerlegt wurde. Z. B.:

| | | | | |
|----------|------|------|------|------|
| Brache | 10,8 | 11,0 | 11,3 | 10,7 |
| Bestellt | 12,4 | 12,4 | 12,7 | 12,6 |

Man könnte ferner die Ursache für jene Erscheinung auch darin suchen, daß die Brache das Wachstum von ammoniakverzehrenden Bakterien befördert, die einen Teil des gebildeten Ammoniaks wieder assimilieren. Aber auch das ist nicht der Fall: Die Bakterien der Brache verzehrten gerade weniger Ammoniak als die von bestelltem Felde, wie folgender Versuch beweist. Es wurde eine Nährlösung hergestellt von folgender Zusammensetzung: 2 Proz. Traubenzucker, 0,3 Proz. Ammoniumsulfat, 0,1 Proz. Kaliumphosphat in Leitungswasser. In Erlenmeyer-Kolben wurden 50 ccm der Lösung unter Zusatz von 0,5 g Calcium-Karbonat mit 20 ccm Bodenaufschwemmung geimpft und nach 10-tägiger Aufbewahrung bei Zimmertemperatur das zurückgebliebene Ammoniak und Magnesia usta abdestilliert. Es wurde noch an Ammoniakstickstoff gefunden:

| | | | | | |
|----------|------|------|------|------|-----|
| Brache | 14,3 | 14,1 | 13,8 | 14,6 | mg |
| Bestellt | 9,3 | 9,2 | 9,9 | 9,8 | " " |

Nach der Herbstbestellung ging die Fäulniskraft der Brache in die Höhe und übertraf bald die der bestellten Parzellen:

| | | | | | |
|----------------------|-----|-----|-----|-----|------|
| Brache, neu bestellt | 7,9 | 8,1 | 8,1 | 8,0 | mg N |
| Bestellt | 7,3 | 7,4 | 7,6 | 7,6 | " " |

Vielleicht ist deshalb die Erscheinung so zu deuten, daß zwischen der Pflanze und den betreffenden Bakterien innige Beziehungen bestehen, daß die Bakterien während der Brachezeit eine Ruheperiode, eine Zeit verminderten Wachstums durchmachen, um ihre Tätigkeit mit um so größerer Kraft wieder aufzunehmen, wenn der Boden wieder bestellt wird und die Pflanze das Wachstum wieder anregt.

2. Die Denitrifikation.

Die zur Denitrifikation benutzte Lösung hatte folgende Zusammensetzung: 1,5 Proz. Traubenzucker, 0,3 Proz. Natriumnitrat, 0,1 Proz. Kaliumphosphat in Leitungswasser. 10 ccm dieser Lösung im Reagenzglas werden mit 5 ccm Bodenaufschwemmung geimpft und bei 25° gehalten. Morgens und abends wurde auf Salpetersäure mit Diphenylamin geprüft. Nachstehende Tabelle zeigt das Resultat. Die Zeit gibt die Anzahl der Tage bis zum Verschwinden der Salpetersäure an.

Von den ursprünglich vorhandenen 4,94 mg Salpeterstickstoff waren verloren gegangen:

| | Zeit | mg N | | | | | Mittel |
|-------------------------------------|------------------|------|-----|-----|-----|-----|--------|
| 1) Sandboden, unbearbeitet | 8 | 1,9 | 2,2 | 1,9 | 2,1 | 2,0 | |
| 2) " durchlüftet | 6 ^{1/2} | 3,4 | 3,1 | 3,7 | 3,5 | 3,4 | |
| 3) Humoser Boden, unbearbeitet | 7 | 0,9 | 1,0 | 0,6 | — | 0,8 | |
| 4) " durchlüftet | 6 | 1,9 | 1,8 | 2,1 | 2,2 | 2,0 | |
| 5) Kalkhaltiger Boden, unbearbeitet | 5 | 2,7 | 3,1 | 3,2 | — | 3,0 | |
| 6) " durchlüftet | 4 | 4,2 | 3,9 | 3,4 | 3,8 | 3,8 | |
| 7) Lehmboden, unbearbeitet | 6 ^{1/2} | 2,7 | 2,5 | 2,6 | 2,7 | 2,6 | |
| 8) " durchlüftet | 5 ^{1/2} | 3,7 | 3,6 | 3,3 | 3,4 | 3,5 | |
| 9) Gartenerde, unbearbeitet | 5 | 2,6 | 2,4 | 2,5 | 2,3 | 2,4 | |
| 10) " durchlüftet | 4 | 3,6 | 3,6 | 3,4 | — | 3,5 | |

Bei allen Bodenarten weichen die Ergebnisse in demselben Sinne ab: Durchlüfteter Boden denitrifiziert unter den Versuchsbedingungen schneller und stärker. Daraus darf man selbstverständlich nicht den Schluß ziehen wollen, daß auch im Acker, wenn er bearbeitet wird, mehr Salpetersäure verloren geht, denn die Versuche zeigen ja nicht an, welche Prozesse im freien Lande sich wirklich abspielen. Die Erscheinungen sind offenbar so zu erklären, daß bei verstärktem Luftzutritt sich reichlich solche aeroben Bakterien entwickeln, die ihren Sauerstoffbedarf auch aus dem Sauerstoff der Salpetersäure decken können. Wird dann später, wie es bei den Versuchen im Reagenzglas der Fall ist, der Luftzutritt vermindert, so greifen jene aeroben Bakterien die Salpetersäure an und bewirken so eine verstärkte Denitrifikation. Von einer analogen Erscheinung haben wir in einer früheren Arbeit¹⁾ berichtet: Wenn man Boden mit Wasser ausschüttelt, so verschwindet die ursprünglich vorhandene Salpetersäure weit schneller, wenn der Boden zuvor an der Luft getrocknet ist. Wir haben seiner Zeit (Mai 1905) diesen Befund durch Denitrifikationsversuche kontrolliert und dabei folgendes gefunden: ca. 3 kg Erde (Gartenerde) wurden gut gemischt. Ein Drittel (A) wurde sofort auf seine Denitrifikationskraft untersucht, das 2. Drittel (B) an der Luft zum Trocknen ausgebreitet, das letzte Drittel wurde in einer großen sterilisierten Glasflasche in flacher Schicht aufbewahrt und öfters umgeschüttelt. B und C kamen nach 14 Tagen zur Untersuchung. Bei

1) Landw. Versuchsst. Bd. LXIII. 1905. p. 239.

den angeführten Versuchen folgten wir der Anordnung von Löhnis¹⁾. Die Nährlösung hatte folgende Zusammensetzung: 10 ccm Bodenextrakt, 1 Proz. Dextrose, 0,2 Proz. Salpeter, 0,5 pro Mille Kaliumphosphat. Der Bodenextrakt bewährte sich bei dieser Gelegenheit gut, die Unterschiede traten bei seiner Anwendung schärfer hervor, während er keinen das Resultat verfeinernden Einfluß zu haben scheint, wenn man mit 5 ccm einer Bodenaufschwemmung impft. Im obigen Falle werden 10 ccm der Nährlösung bei A und C mit 1 g, bei B mit 0,8 g Erde geimpft. Bei B wurde die Impfmenge geringer bemessen, um den Gefäßen annähernd gleiche Mengen Trockensubstanz zuzuführen und dadurch die Versuche vergleichbarer zu gestalten. Die Trockensubstanz betrug:

bei A 76,01 Proz.
 „ B 96,24 „
 „ C 76,56 „

Nach beendeter Denitrifikation waren von den ursprünglich vorhandenen 3,29 mg Salpeterstickstoff verloren gegangen:

| | Zeit | mg N | | | | Mittel |
|---|--------|------|------|------|------|--------|
| A | 5 Tage | 0,34 | 0,28 | 0,53 | 0,96 | 0,53 |
| B | 1½ „ | 1,97 | 1,61 | 0,89 | 1,98 | 1,61 |
| C | 2 „ | 1,52 | 1,70 | 1,06 | — | 1,43 |

Die Tabelle ergibt auch eine Verstärkung der Denitrifikationskraft bei den durchlüfteten Erden, die wohl die gleiche Ursache hat wie bei den oben angeführten Versuchen. Eine (vergleichsweise) große Denitrifikationskraft scheint danach das Kennzeichen einer guten Durchlüftung zu sein.

Die Tabellen zeigen noch, daß bei den vergleichbaren Versuchen um so mehr Nitratstickstoff in Freiheit gesetzt wurde, in je kürzerer Zeit sich die Denitrifikation vollzogen hatte. Dies ist durchaus nicht immer der Fall, wir sind bei anderen Versuchen des öfteren der Erscheinung begegnet, daß die Gefäße mit längerer Denitrifikationsdauer die größeren Stickstoffverluste aufwiesen. Die quantitative Analyse ist deshalb nicht zu umgehen.

3. Stickstoffassimilation.

Hier entsprach das Resultat der Erwartung, daß verstärkter Luftzutritt die Assimilation befördere. Die Lösung (250 ccm Leitungswasser, 1 g CaCO₃, 2 Proz. Dextrose, 0,1 Proz. NaCl, 0,1 Proz. K₂HPO₄) wurde in großen Erlenneyer-Kolben mit 20 ccm der Bodenaufschwemmung geimpft und dann bei Zimmertemperatur gehalten. Nach 30 Tagen wurde der gesamte Kolbeninhalt in Stickstoffkolben übergeführt und nach Kjeldahl verbrannt. Schon äußerlich zeigte sich bei der Entwicklung insofern ein Unterschied, als die schwimmende Azotobakterhaut in den Kulturgefäßen, die mit durchlüfteter Erde geimpft waren, erst spät eine leichte Bräunung annahm, während sie sich in den anderen Gefäßen schneller schwärzte. Die Analyse lieferte folgendes Ergebnis:

(Siehe Tabelle p. 404.)

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XII. 1904. p. 461.

| | mg N assimiliert | | | | Mittel |
|-------------------------------------|------------------|------|------|------|--------|
| 1) Sandboden, unbearbeitet | 17,3 | 15,3 | 13,7 | — | 15,4 |
| 2) " durchlüftet | 14,5 | 19,1 | 18,6 | 16,9 | 17,3 |
| 3) Humoser Boden, unbearbeitet | 21,2 | 21,9 | 20,8 | — | 21,3 |
| 4) " durchlüftet | 30,2 | 28,0 | 29,4 | — | 29,2 |
| 5) Kalkhaltiger Boden, unbearbeitet | 8,5 | 7,7 | 9,3 | 9,6 | 8,8 |
| 6) " durchlüftet | 13,8 | 13,9 | 15,0 | 14,2 | 14,2 |
| 7) Lehmboden, unbearbeitet | 10,5 | 10,3 | 9,7 | 9,4 | 10,0 |
| 8) " durchlüftet | 17,7 | 19,3 | 21,6 | — | 19,5 |
| 9) Gartenboden, unbearbeitet | 14,4 | 15,3 | 14,8 | — | 14,8 |
| 10) " durchlüftet | 23,2 | 24,3 | 21,4 | — | 23,0 |

Die Versuche zeigen alle in gleicher Weise, daß die stickstoffassimilierenden Bakterien aus den durchlüfteten Parzellen eine regere Tätigkeit entfaltet haben.

4. Nitrifikation.

Für die Nitrifikationsversuche benutzten wir eine Nährlösung von folgender Zusammensetzung:

25 ccm Leitungswasser
 0,1 g Ammoniumsulfat
 0,05 g Kaliumphosphat
 1 g basisches Magnesiumkarbonat

Dies Gemisch wurde mit 20 ccm der Bodenaufschwemmung geimpft und nach 40 Tagen (Zimmertemperatur) der Salpetersäuregehalt nach Schlösing festgestellt. Das Ergebnis war das folgende:

| | mg Salpeterstickstoff | | | | Mittel |
|-------------------------------------|-----------------------|------|------|------|--------|
| 1) Sandboden, unbearbeitet | 1,56 | 1,51 | 1,68 | 1,47 | 1,56 |
| 2) " durchlüftet | 1,03 | 0,97 | 0,90 | 1,13 | 1,01 |
| 3) Humoser Boden, unbearbeitet | 8,03 | 9,10 | 8,56 | 8,62 | 8,57 |
| 4) " durchlüftet | 8,22 | 9,43 | 8,28 | 8,44 | 8,59 |
| 5) Kalkhaltiger Boden, unbearbeitet | 4,52 | 4,64 | 4,51 | 4,58 | 4,56 |
| 6) " durchlüftet | 3,52 | 3,48 | 3,19 | 3,32 | 3,38 |
| 7) Lehmboden, unbearbeitet | 5,01 | 4,90 | 5,12 | 5,09 | 5,03 |
| 8) " durchlüftet | 2,90 | 3,21 | 3,12 | — | 3,08 |
| 9) Gartenboden, unbearbeitet | 5,25 | 5,32 | 5,33 | — | 5,30 |
| 10) " durchlüftet | 4,51 | 4,36 | 4,39 | — | 4,42 |

Die Annahme, die man zu machen geneigt ist, daß die Durchlüftung die nitrifizierende Kraft des Bodens heben würde, trifft nicht zu, vielmehr zeigt sich, daß die Bakterien aus den durchlüfteten Parzellen weniger Salpetersäure gebildet haben als die aus den unbearbeiteten, mit Ausnahme des Humusbodens, bei dem sich aus den Zahlen sichere Schlüsse nicht ziehen lassen, besonders da hier die Ergebnisse der Parallelversuche nicht so gut übereinstimmen als bei den anderen Bodenarten. Es ist noch bemerkenswert, daß die nitrifizierende Kraft sich annähernd dem Humusgehalte der betreffenden Bodenarten proportional erweist. Der Humusgehalt war folgender:

Sandboden 1,87 Proz.
 Kalkhaltiger Boden 3,52 „
 Gartenerde 3,95 „
 Humoser Boden 9,27 „
 Lehmboden 3,65 „

Auch die Brache hat dieselbe Wirkung wie die Durchlüftung auf die Nitrifikationsfähigkeit. Die Erscheinungen sind ähnlich wie bei der

Fäulniskraft und es lassen sich auch hier nur unsichere Vermutungen über die Ursachen äußern. Zwar enthält die Brache beständig mehr Salpetersäure als mit Pflanzen bestandener Boden, die nitrifizierende Kraft der Brache aber ist geringer, sie erfuhr eine Steigerung nach der Herbstbestellung und trat an die Spitze aller Parzellen.

Die Ergebnisse unserer Untersuchung stehen mehrfach in Widerspruch mit den Resultaten anderer Forscher. So hat Löhnis¹⁾ z. B. eine Schwächung der Denitrifikationskraft infolge des Schälens festgestellt. Es ist deshalb wahrscheinlich, daß die Durchlüftung unter verschiedenartigen Verhältnissen verschieden wirkt. Auch hängt der Erfolg vielleicht von dem Grade der Durchlüftung ab. Die Versuche müssen oft und unter verschiedenartigen Verhältnissen wiederholt werden, um sichere Erkenntnisse zu gewinnen. Jedenfalls ergeben auch unsere Versuche, daß Remys statistische Methode sehr wohl geeignet ist, unbekannt Zusammenhänge aufzudecken und der Bakteriologie neue Probleme zu stellen.

Schließlich geht auch aus den vorstehenden Untersuchungen hervor, daß die Abänderung des Impfverfahrens sich gut bewährt hat. Uns wenigstens ist es bei der Impfung mit Erde selbst nicht gelungen, derartig scharfe Unterschiede zwischen verschieden behandelten Parzellen und eine so leidliche Uebereinstimmung der Parallelversuche zu erzielen, wengleich die Abrechnungen besonders bei der Stickstoffassimilation auch hier noch recht beträchtliche sind.

Nachdruck verboten.

Ueber die Ernährung holzerstörender Pilze.

Von **Basilius Malenković,**

k. und k. Hauptmann (Referent für technische Mykologie im k. und k. Technischen Militärkomitee in Wien).

Mit 1 Figur.

I. Notwendigkeit von Reinkulturen.

Die Zerstörung des Holzes in der Natur ist meist das Ergebnis des Nebeneinander- oder Nacheinanderwirkens verschiedener Pilzklassen und nicht die Folge der Einwirkung eines Pilzes allein.

Allerdings gibt in einem bestimmten Zerstörungsstadium oft nur ein bestimmter Pilz — ein sogenannter „echter Holzerstörer“ — dem Holze das Gepräge der Zerstörung. Dieser Fall ereignet sich insbesondere bei Pilzinvasionen lebender Bäume (Wundparasiten nach v. Tubeuf) sehr häufig. In solchen Fällen liegt zwar keine Reinkultur vor, das Holz ist aber in einzelnen Partien fast so zerstört, als wäre eine solche vorgelegen. Aus dem Aussehen des Holzes, aus dessen chemischem Verhalten kann man dann annähernd richtige Rückschlüsse auf den Chemismus der Zerstörung ziehen.

So könnte man beispielsweise sagen: *Trametes pini* macht stellenweise Cellulose frei, zerstört und verzehrt also stellenweise die Ligninsäuren. Aber auch nur stellenweise; außerhalb der Flecke sind die Ligninsäuren jedenfalls nicht verzehrt, ja vielleicht die Verbindung Ligninsäure-Cellulosen nicht einmal gespalten.

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XII. 1904. p. 460.

Liegt Nutzholz vor und wird dasselbe von einem saprophytischen Holzerstörer befallen, so werden nebst diesem in der Regel andere Pilze (Schimmel, event. Bakterien) am Zerstörungswerke mitwirken. Ja das Wesen der künstlichen Zucht der Holzerstörer liegt geradezu darin, solche Bedingungen zu finden, unter welchen der Holzerstörer die Konkurrenz der Mitbewerber um Nahrung überwindet.

Sei es im Freien, sei es in Gebäuden entnommene, von Holzerstörern zerstörte Holzproben werden sonach zwar sehr oft das Gepräge der Zerstörung durch einen bestimmten Pilz (z. B. *Merulius lacrymans*, *Polyporus vaporarius*, *Coniophora cerebella*) tragen, ebenso oft aber unter der nicht zu vernachlässigenden Mitwirkung anderer Pilze zerstört worden seien. Solche Holzproben werden sonach nur ein annäherndes Bild der Zerstörung durch diesen Holzerstörer bieten können.

Man wird immer den Einwand: „Keine Reinkultur, Resultat nicht einwandfrei!“ mit mehr oder weniger Recht erheben dürfen.

II. Resultate bei *Merulius lacrymans*.

Als maßgebend konnten bei meinen Versuchen nur solche Vorarbeiten gelten, die sich zweifellos auf Reinkulturen beziehen.

Aus Lafars Handbuch der Technischen Mykologie, Band III, 10. und 11. Kapitel, war zu ersehen, daß über Pektingärung (10. Kapitel) wohl eine Reihe von Vorarbeiten besteht, daß es sich aber hierbei um Pilze handelt, die man selbst bei weitgehendster Fassung des Begriffes „holzerstörender Pilz“ kaum unter diesen Begriff bringen kann. Immerhin wurde das dort Erwähnte zur allgemeinen Orientierung verwertet.

Im Kapitel 11 fand ich nur eine, mir von früherher wohlbekannt Arbeit zitiert, die sich zweifellos auf Reinkulturen bezieht. Es ist das die Arbeit: „Beitrag zur Kenntnis des Hausschwammes, *Merulius lacrymans*“ von Prof. Dr. C. Freiherr v. Tubeuf¹⁾.

Dieser Forscher stand bei Durchführung seiner Arbeit einerseits noch unter dem Eindrucke einzelner von Rob. Hartig geäußerten Anschauungen, andererseits unter dem Eindrucke der von ihm gefundenen Tatsache, daß bei der Zucht des Hausschwammes das Vorhandensein freier Säuren einen wirksamen Schutz gegen unbeabsichtigte Infektionen durch Bakterien bietet, und wußte (auf Grund eigener Versuche) schließlich, daß Hausschwamm viel freie Säure verträgt.

So kommt es, daß v. Tubeuf nicht reine Nährsalzlösungen benutzte, sondern denselben noch organische Säuren zusetzte, und daß dessen Mineralnährlösungen sehr viel Ammonnitrat enthielten. Die benutzten Lösungen hatten nämlich die Zusammensetzung in Proz.:

| Salz | I | II |
|-----------------|-----|-----|
| Ammonnitrat | 1,0 | 1,0 |
| Kaliumphosphat | 0,5 | 0,5 |
| Magnesiumsulfat | 0,1 | 0,1 |
| Milchsäure | 0,2 | — |
| Citronensäure | — | 0,2 |

Bei Benutzung von Nährstoffen, die in Wasser löslich sind, wurde Gelatine zugegeben. Es wird später erörtert werden, daß zur Erzielung

1) Centralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. IX. 1902, Heft 3/4. p. 127.

einwandfreier Resultate unter allen Umständen dringend zu empfehlen ist, flüssige Nährboden in feste zu verwandeln.

Anscheinend hat schon v. Tubeuf diese mir sehr wichtig scheinende Beobachtung gemacht.

Seine Versuche ergaben nachstehendes Resultat:

| No. | Nährsalz- lösung | Kohlenstoffquelle | Wachstum | Anmerkung |
|-----|---------------------|-------------------------------|--------------------|--------------------------|
| 1 | II | Dextrose | gut | mit Gelatine |
| 2 | I | Rohrzucker | in flacher Schicht | mit Gelatine |
| 3 | II | Rohrzucker | gut | mit Gelatine |
| 4 | I | Filtrierpapier (gewöhnliches) | mäßig gut (?) | Resultat nicht angeführt |
| 5 | I | Filtrierpapier (schwedisches) | sehr gut | — |
| 6 | I | Verbandwatte | schlecht | — |
| 7 | I | Hobelspäne von Kiefernholz | schlecht | — |

Malenković¹⁾ fand, daß auf einem Nährboden mit
2 Proz. Xylan,
0,5 „ Liebig's Fleischextrakt,
2 „ Agar-Agar.

das Mycel des Hausschwammes nur insofern wuchs, als es am mit überimpften Nähragar Reste an Nahrung fand.

Bei einem weiteren Versuche (No. 8) benutzte v. Tubeuf nachstehende Nährlösung:

(? Proz.) NH_3 0,2 Proz. Citronensäure,
0,5 Proz. K_2HPO_4 5,0 „ Gelatine,
0,1 „ MgSO_4 5—10 „ Rohrzucker

Der Pilz wuchs auch auf diesem Nährboden (der als Stickstoffquelle tatsächlich citronensaures Ammon enthielt).

Vernachlässigt man den Einfluß der Säure, d. i. der zweiten Kohlenstoffquelle (Citronensäure, Milchsäure), vernachlässigt man weiter den sich möglicherweise geltend machenden Einfluß hoher Dosen an Ammonnitrat (1 Proz.), so würden die Tubeuf'schen Versuche ergeben:

a) Anorganische Stickstoffnahrung, und zwar ein Ammonsalz (Versuch 5) und einigermassen auch 8) genügt.

b) Dextrose²⁾ und Rohrzucker sind brauchbare Kohlenstoffquellen.

c) Reinstes im Handel vorkommendes Filtrierpapier (schwedisches Filtrierpapier), also fast reine Dextrose-Cellulose, ist eine gute Kohlenstoffquelle.

Gänzlich unerwartet kommt die Beobachtung, daß der Hausschwamm auf Verbandwatte und Hobelspänen von Kiefernholz schlecht wuchs.

Diesfalls haben sich vielleicht die bereits angeführten Stoffe (Säure, Ammonnitrat) störend geltend gemacht, so daß dort schlechtes Wachstum eintrat, wo tatsächlich gutes zu erwarten war. Würde man von den störenden Ursachen absehen, so müßte man aus diesen Versuchen noch den Schluß ziehen: Je reiner die Cellulose, desto besser wächst der Pilz (schwedisches Filtrierpapier). Das Tatsachenmaterial ist ein viel

1) Naturwissenschaftliche Zeitschrift für Land- u. Forstwirtschaft. 1904. Heft 2/3.

2) Vermutlich auch: Maltose, Dextrin, Stärke, Dextroso-Cellulose (siehe c), d. h. alle sich von Dextrose ableitenden Kohlenhydrate.

zu geringes, die Sachlage viel zu verwickelt, als daß eine Berechtigung bestände, diesen Schluß zu ziehen.

Der Versuch von Malenković ergab, daß die im Agar-Agar vorhandenen Stoffe, dann das absichtlich zugesetzte Xylan für Hausschwamm zumindest keine guten Kohlenstoffquellen sind.

Versuche, die sich nicht auf Reinkulturen beziehen, ausdrücklich ausgenommen, ist das alles, was bisher über die eigentliche Ernährung holzzerstörender Pilze bekannt ist¹⁾. Das ist sehr wenig! Es ist kaum nötig anzuführen, daß mir das Bestehen der Tubeuf'schen Vorarbeit viel Nutzen brachte und für die Anordnung einzelner Versuche (Cellulosen als Nahrung, Stickstoffquellen) maßgebend war.

III. Versuche mit *Coniophora cerebella* (*Corticium putaneum*).

Dieser Pilz ist einer der verbreitetsten Holzzerstörer und kommt sowohl im Freien als auch in Gebäuden vor.

Die früher von mir oft versuchte und stets mißglückte Reinzucht dieses Pilzes aus Mycel gelang überraschend leicht, als aus einer Telegraphenstange frisches Mycel dieses Pilzes herauswuchs und im Begriffe stand, sich zu einem Fruchträger umzubilden.

Ein Flöckchen des Mycels (zum Teil zu Fruchträgermassen umgebildet) wurde auf Brotbrei gebracht. Nach einigen Tagen wuchs das Mycel bei 15° C am Brot. Nach wenigen Ueberimpfungen lag eine Reinkultur des Pilzes vor.

Auf Brotbrei wächst dieser Pilz jedenfalls schon bei + 8° und jedenfalls noch bei + 24° C (siehe das Bild).

Der Pilz wuchs auf Brotbrei auch dann, wenn dem Brotbrei so viel Na-

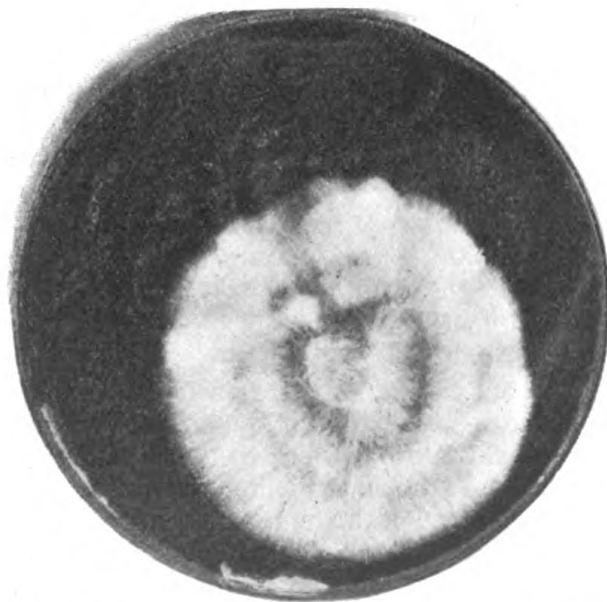
triumkarbonat zugesetzt wurde, daß ein stark alkalisch reagierender Nährboden entstand²⁾.

Ebenso verträgt der Pilz, diesfalls übereinstimmend mit Hausschwamm, jedenfalls noch 0,5 Proz. Zusatz an Citronensäure zum Nährboden.

Das mitunter schwefelgelb, ja sogar orangefarben werdende Mycel enthält reichlich Harz. (Reichlicher Gehalt an Harz kommt bei fast allen Holzzerstörern vor!)

1) Die hier als bekannt vorausgesetzten (sonach nicht erst zu erläuternden) dem Wesen nach allgemein anerkannten Anschauungen von Czapek (Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. Bd. XVII. 1899. p. 166) beziehen sich auf die Art der Spaltung der Holzsubstanz.

2) Unterschied vom Hausschwamm! (Untersuchungen von Freiherr v. Tubeuf).



Bezüglich der Stickstoffquelle wurde, wie später noch zu erläutern sein wird, festgestellt:

a) Organische Stickstoffnahrung ist in der Regel unnötig.

b) Ein Ammonsalz allein genügt als Stickstoffquelle. Diesfalls ergaben also die Versuche dasselbe, was aus den Versuchen, die Freiherr v. Tubeuf mit Hausschwamm durchführte, abzuleiten war.

Die benutzte Mineralnährlösung hatte die Zusammensetzung:

| | | | |
|---------------------------------|------------|--|-----------|
| KNO ₃ | 0,15 Proz. | NH ₄ H ₂ PO ₄ | 0,1 Proz. |
| K ₂ HPO ₄ | " | MgSO ₄ | 0,05 " |

Das Wasser war gewöhnliches Hochquellen-Leitungswasser.

Coniophora Cerebella denitrifiziert Nitrate nicht.

Auf mit Wasser befeuchteten Kiefern- oder Buchenholz-Sägespänen wächst der Pilz nur kurze Zeit und schlecht. Ersetzt man das Wasser durch die Nährlösung¹⁾ so ergibt sich für verschiedene Anteile des Buchenholzes (Versuchstemperatur konstant 15—17° C) nachstehendes Resultat:

| No. | Holzanteil bzw. Substanz | Wachstum |
|-----|--|--------------------------------|
| 1 | Holzextrakt, d. h. Holz mit Mineral- lösung extrahiert. Auf 100 g Holz 100 ccm Nährlösung | Der Pilz wächst gut. |
| 2 | Holz ²⁾ mit Wasser erschöpft. Befeuchtet mit Minerallösung | Der Pilz wächst gut. |
| 3 | Holz mit Ammoniak (kalt) erschöpft. Befeuchtet mit Minerallösung | Der Pilz wächst gut. |
| 4 | Holz mit siedender Kalilauge erschöpft (also frei von Xylan). Befeuchtet mit Minerallösung | Der Pilz wächst gut. |
| 5 | Cellulose aus Buchenholz, hergestellt nach der Methode Lange (Schmelzen mit Aetzkali). Befeuchtet mit Mineral- lösung | Der Pilz wächst sehr gut. |
| 6 | Ligninsäuren, hergestellt nach Lange. An- teil, der in Alkohol löslich ist. Befeuchtet mit Minerallösung | Der Pilz wächst nur mäßig gut. |

Bei Buchenholz findet sich sonach in allen Anteilen des Holzes genug an Nährstoffen.

Der Pilz ist weder auf den Holzextrakt noch auf das Xylan, ja nicht einmal auf die Cellulose angewiesen. Er wächst ja, allerdings nur mäßig gut, selbst auf den Ligninsäuren.

Durch die nächste Versuchsreihe sollte festgestellt werden, ob von Coniophora total zerstörtes Holz der Fichte (benutzt wurde pul-

1) Gemeint ist stets „Mineralsalzlösung“.

2) Sägespäne.



verisiertes Holz)¹⁾ noch Nährstoffe enthält und wenn ja, in welchem Holzanteile sich dieselben befinden.

Es ergab sich:

| No. | Holzanteil | Wachstum (Anmerkung) |
|-----|--|--|
| 1 | Extrakt (mit Nährlösung extrahiert) aus total zerstörtem Holze | Gut. (Extrakt durch Seesand aufgesaugt). |
| 2 | Total zerstörtes Holz mit Nährlösung befeuchtet | Der Pilz wächst sehr gut. (Ebenso bei Holz, von <i>Polyporus vaporarius</i> total zerstört). |
| 3 | Mit Wasser erschöpft, mit Nährlösung befeuchtet | Der Pilz wächst. |
| 4 | Mit Ammoniak erschöpft u. s. w. | Versuch mißlungen. Material zur Wiederholung nicht vorhanden. |
| 5 | Mit Natronlauge (kochend) erschöpft u. s. w. | Der Pilz wächst anfangs langsam, dann aber in hoher Schicht und gut. |
| 6 | Cellulose aus total zerstörtem Holze | War zu wenig Material für einen Versuch. (Nachzutragen). |
| 7 | Ligninsäuren aus total zerstörtem Holze | Methode zur Gewinnung unbekannt. |

Die zweite Versuchsserie ergab die sehr wichtige Tatsache, daß selbst total von *Coniophora cerebella* zerstörtes, schon mit den Fingern pulverisierbares, Holz — sofern es mit Nährlösung (statt Wasser) befeuchtet wird — noch immer einen sehr guten Nährboden, ja geradezu einen besseren als noch unverändertes Holz darstellt (Versuch 2).

Diese Nährstoffe sind zum Teil in wasserlöslicher Form da (Versuch 1).

Auch auf Holz, von *Polyporus vaporarius* zerstört, und mit Nährlösung befeuchtet (Versuch 2) wuchs der Pilz recht gut. Die Erklärung dieses mir durchaus nicht unerwartet gekommenen Resultates ist ebenso interessant als einfach. Man braucht nur an das Verhalten von Lösungen verschiedener Zuckerarten gegen Hefe zu denken.

E. Fischer und Thierfelder (Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft. 1894. p. 2031—2037) fanden, daß wässerige 10-proz. Lösungen von d-Mannose, d-Fruktose, Saccharose und Maltose, sowohl von *Saccharomyces ellipsoideus* I als auch von *S. ellipsoideus* II quantitativ vergoren werden.

Dagegen wird d-Galaktose von *Saccharomyces ellipsoideus* I nicht ganz, von *S. ellipsoideus* II nur teilweise vergoren.

Würde man höher konzentrierte Lösungen, z. B. 15, 20, 25 . . . x-proz.

1) Es wird ausdrücklich bemerkt, daß nur total zerstörte Holzpartieen benutzt wurden. Total zerstörtes Holz muß schon beim Zusammendrücken mit den Fingern zerfallen. Man zerstößt am besten total zerstörtes Holz in einem Mörser und siebt durch ein Sieb. Was übrig bleibt, ist nicht total zerstört. Die Anwendung von Raspel, Feile u. s. w. ist da ganz ausgeschlossen.

verwenden, so wäre selbst die Vergärung der d-Mannose u. s. w. von einer bestimmten Konzentration ab keine quantitative mehr.

Schon wegen des gebildeten Alkohols müßte die Vergärung eine unvollständige bleiben.

Interessant wäre es, zahlenmäßig zu wissen, welche Menge (Proz. Anteil) an Disacchariden (Maltose, Rohrzucker) in solchen Fällen unvollständiger Vergärung invertiert wird.

Es kann kaum ein Zweifel darüber bestehen, daß in manchen Fällen mehr invertiert wird, als zur Vergärung gelangt.

Die drei Resultate für die Vergärung von Zuckerlösungen mit Hefe lauten also:

- 1) Verdünnte Lösungen können, müssen aber nicht, quantitativ vergoren werden.
- 2) Von einer bestimmten Konzentration ab ist die Vergärung keine quantitative.
- 3) Bei den Disacchariden wird mehr invertiert als vergoren.

Holz ist mit einer höchst konzentrierten Lösung eines Gemisches verschiedener Disaccharide vergleichbar und es tritt hier jene Frage auf, die Pfeffer in seiner Pflanzenphysiologie. Bd. I. 1897. § 67. p. 376 stellt¹⁾. An Hand des bereits Bekannten (also nicht a priori) ist zu vermuten:

- 1) Höchstens jene sehr gut ernährenden Kohlenhydrate des Holzes, die in geringer Menge vorkommen, können quantitativ vergoren werden.
- 2) Die Vergärung (Assimilation) der Kohlenhydrate des Holzes ist keine quantitative.
- 3) Es wird mehr Holzsubstanz gespalten als vergoren wird.

Es kann nun die Frage aufgeworfen werden: Warum kommt die Zerstörung des Holzes durch einen bestimmten Holzzerstörer nach Erreichung eines bestimmten Zerstörungsgrades zum Stillstande?

Vornehmlich zwei Ursachen sind es:

a) Ebenso wie bei der Vergärung der Hefen der Alkohol, wirken auch hier schon die gebildeten normalen Stoffwechselprodukte wachstumshemmend. Daneben ist auch eine Anhäufung geradezu toxisch wirkender Nebenprodukte eine Autointoxikation zu erwarten.

b) Zwischen der Menge an vergärbaren Kohlenhydraten und der Menge an anorganischen Nährsalzen u. s. w. besteht ein Mißverhältnis, so daß von einem bestimmten Zeitpunkte ab ein Mangel an mineralischen und stickstoffhaltigen Stoffen besteht.

Derselbe Pilz kann nun nicht weiter wachsen, sondern nur ein solcher, der den Leib des vorhergehenden verzehrt (Metabiose). Die Sachlage ist eine ganz andere, wenn zerstörtes Holz pulverisiert und sterilisiert wird. Jetzt kann auch derselbe Pilz eventuell nochmals wachsen.

Bei Würdigung dieser Verhältnisse (b) ist es dringend geboten, sich aller zu weitergehenden Schlüsse für die Praxis zu enthalten. Man könnte sonst auf allerlei abenteuerliche, mit der Praxis nicht im Einklange stehenden Schlußfolgerungen verfallen.

1) Sinn der Frage: Was tut die Pflanze beim Vorliegen eines Gemisches an Nährstoffen?

IV. Welche Stoffe kann *Coniophora cerebella* verzehren?

A. Stickstoffquellen.

Vorausgeschickt sei, daß *Coniophora cerebella* auf einem Nährboden, der nebst den nötigen Nährsalzen 10 Proz. Dextrin enthält, gut wächst.

Die Nährsalzkompositionen bestand aus:

| Stoff | I | II |
|------------------------------------|-----------|-----------|
| KNO_3 | 0,2 Proz. | — |
| $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ | — | 0,2 Proz. |
| K_2HPO_4 | 0,1 " | 0,1 " |
| MgSO_4 | 0,05 " | 0,05 " |

Bei Verwendung von I wuchs der Pilz nur schlecht¹⁾, bei II sehr gut. (Kohlenstoffquelle 10 Proz. Dextrin.)

Coniophora cerebella verlangt sonach Ammonsalze als Stickstoffquelle. Ob organische Stickstoffnahrung (Pepton) als Stickstoffquelle verwertbar ist, wird erst geprüft werden. Zusatz von Pepton zu einem Nährboden, bestehend aus:

| | |
|------------------------------------|------------|
| KNO_3 | 0,15 Proz. |
| $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ | 0,15 " |
| K_2HPO_4 | 0,1 " |
| MgSO_4 | 0,05 " |
| Passender Kohlenstoffträger | 10,0 " |

fördert nicht das Wachstum.

B. Kohlenstoffquellen.

Als Vorbild dienten mir Versuche mit Hefe (siehe Lintner, Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben. 2. Aufl. 1898. p. 143 u. s. f.). Die Minerallösung enthielt:

| | | | |
|------------------------------------|------------|--------------------------|-----------|
| KNO_3 | 0,15 Proz. | K_2HPO_4 | 0,1 Proz. |
| $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ | 0,15 " | MgSO_4 | 0,05 " |

Feste Kohlenstoffquellen wurden mit dieser Nährlösung so befeuchtet, daß ungebundene (abtropfende) Flüssigkeit (überstehendes Wasser) nicht mehr vorhanden war. Von wasserlöslichen Kohlenstoffquellen kam eine 10-proz. Lösung, und zwar nicht als solche, sondern in der Weise zur Verwendung, daß reiner Quarzsand (Seesand) mit der 10-proz. Lösung bis zur Sättigung getränkt wurde.

Flüssige Nährböden sind für Komparativversuche über den Nährwert von Holzpilzen unbedingt zu verwerfen:

- Die Infektionsgefahr ist eine sehr große.
- Das überimpfte Mycel kann sehr leicht „ersäufen“ (d. i. unter die Flüssigkeit gelangen und nicht zur Entwicklung kommen).
- Der Pilz vermag nur an der Oberfläche zu wachsen²⁾.

1) Anscheinend gar nicht; zu wiederholen.

2) Ausnahme: sogenanntes „Wassermycel“.

d) Das Wachstum ist auf flüssigem Nährboden überhaupt schlechter als auf festem.

Die Anwendung flüssiger Nährböden für Ernährungsversuche mit Holzzerstörern ist eine Quelle von allerlei Irrtümern und soll möglichst vermieden werden.

Noch eine Quelle von Irrtümern besteht.

Bei Holzzerstörern muß man bei der Ueberimpfung viel Mycel samt anhaftendem Nährboden, Stücke etwa von der Größe einer Mark, überimpfen.

Es scheint fast, als bestände eine Inkubationsdauer und als würde eine kleine Menge überimpfter Substanz nicht ausreichen, um eine Infektion zu bewirken. Populär könnte man sagen: „Der Pilz greift nicht rasch“, „faßt nicht rasch Wurzeln“.

Große Mengen an Infektionsmaterial bringen aber Nährstoffe mit, so daß eine neue Fehlerquelle entsteht. Sind die mitüberimpften Nährstoffe in Wasser unlöslich, so können sie sich wenigstens nicht ausbreiten.

Es wurde darum stets von einer keinerlei wasserlösliche Nährstoffe (Kohlenhydrate) enthaltenden Kultur auf Cellulose (auf der, wie vorausgeschickt wird, der Pilz wächst), auf andere Nährböden abgeimpft.

Der Versuchsfehler ist weiter dann ein geringer, wenn die Fläche, auf der der Pilz sich ausbreiten kann, eine sehr große ist, so daß sich der Einfluß überimpfter Nährstoffmengen auf die entfernteren Partien nicht mehr geltend machen kann.

Bei teuren Präparaten kann man aber leider große Nährstoffmengen (große Kulturgefäße) nicht verwenden; man macht dann (und auch sonst in Zweifelsfällen) Doppelüberimpfungen, nämlich:

1) Von Cellulose auf den zu prüfenden Nährboden N.

2) Von N abermals auf N (neue Schale). Dann ist jeder Fehler ausgeschaltet.

Die Wachstumsintensität soll in folgenden Abstufungen angegeben werden:

a) Hemmung. Selbst das überimpfte Mycel geht bald zu Grunde.

b) Kein Wachstum. Das überimpfte Mycel wächst einige Zeit, ohne sich auszubreiten und geht dann erst zu Grunde.

c) Wachstum (schwach, mäßig, gut, sehr gut, hoch, flach u. s. w.).

Alle Versuche wurden im Thermostaten bei 15–17° C durchgeführt.

Nur bei ein und derselben konstanten Temperatur durchgeführte Versuche sind vergleichbar!

Die Resultate der Versuche gibt folgende Tabelle.

(Siehe Tabelle p. 414.)

Anhand dieser Versuche kann man von *Coniophora cerebella* kaum behaupten, daß sie in der Nahrungsaufnahme sehr wählerisch wäre!

1) Alle Produkte, die sich von Dextrose ableiten (Maltose, Dextrin, Stärke, reine Dextrosecellulose [Versuch 20]) sind gute Kohlenstoffquellen¹⁾. Am meisten sagen anscheinend dem Pilze mittelmolekulare Verbindungen (Maltose, Dextrin, Stärke) zu.

1) Unaufgeklärt bleibt, warum Filtrierpapier (reinst, schwedisch) Schleicher und Schüll ungleichmäßige Resultate gab.

| No. | Substanz Gruppe | Substanz | Wachstum | Anmerkung Provenienz des Präparates |
|-----|---|---|---|---|
| 1 | Mannosaccharide | Dextrose | Wachstum gut | Inulin schlechtes Wachstum. Schuchardt, Görnitz (Mannan ebenso). E. Merck, Darmstadt. |
| 2 | | Lävulose (d-Fruktose) | Hemmung | |
| 3 | | d-Mannose | Wachstum gut | |
| 4 | | d-Galaktose | Wachstum sehr gut. Hoch | |
| 5 | Disaccharide | Maltose | Wachstum gut | |
| 6 | | Rohrzucker | Wachstum mäßig gut (schlechter als Maltose und Milchsucker) | |
| 7 | Von Dextrose abgeleitete Polysaccharide | Milchsucker | Wachstum gut | |
| 8 | | Dextrin | Wachstum sehr gut | |
| 9 | | Stärke | Wachstum sehr gut. Flach | |
| 10 | Alkohole der Hexosen | Mannit | Wachstum mäßig gut | E. Merck, Darmstadt. |
| 11 | | Dulcit | Wachstum gut | |
| 12 | Kohlenhydrate mit 5 Kohlenstoffatomen | Xylan | Wachstum mäßig gut. Flach | Schuchardt, Görnitz |
| 13 | | Arabinose | Wachstum schlecht (Wäre zu wiederholen!) | |
| 14 | | Arabin (Arabinsäure, Metapektinsäure) | Wachstum sehr gut | |
| 15 | Gerbstoffe | Gerbsäure | Kein Wachstum | |
| 16 | Eiweißstoffe | Pepton | Kein Wachstum; fast Hemmung | |
| 17 | Fette | Schweinefett | Hemmung (Absterben sehr rasch) | |
| 18 | Cellulose | Filtrierpapier, Schleicher u. Schüll (schweedisches reinstes) | Einmal gutes Wachstum. Dreimal schlechtes Wachstum, stets flach | Bei Pepton als Stickstoffquelle stets gutes Wachstum. |
| 19 | | Baumwolle (Charpie-wolle entfettet) | Wachstum gut | absolut frei von Stoffen, die in Kalilauge löslich. |
| 20 | | Baumwolle von Stoffen, die in Kalilauge löslich, befreit | Wachstum gut | |
| 21 | | Sulfitcellulose ungebleicht | Wachstum gut | |
| 22 | | Aus Kiefernholz nach Methode Lange hergestellte Cellulose | Wachstum sehr gut. Hoch | |
| 23 | | Aus Buchenholz nach Methode Lange hergestellte Cellulose | Wachstum sehr gut. Hoch | |

| No. | Substanz Gruppe | Substanz | Wachstum | Anmerkung Provenienz des Präparates |
|-----|-----------------|----------------------|------------------------------|-------------------------------------|
| 24 | — | Ligninsäuren | Wachstum mäßig. Unregelmäßig | Anteil, der in Alkohol löslich. |
| 25 | Methyl-Pentose | Rhamnose (Isodulcit) | Wachstum ziemlich gut | |

2) d-Mannose ist eine ebenso gute Kohlenstoffquelle als Dextrose, d-Galaktose ist ein weit besserer Nährboden als Dextrose. Es ist zu vermuten, daß Mannane Galaktane, Mannocellulosen, Galaktocellulosen vorzügliche Kohlenstoffquellen darstellen.

3) Aus Holz isolierte Cellulosen dürften noch Manno- und Galaktocellulose enthalten und darum vorzügliche Kohlenstoffquellen sein, bessere als Dextrosocellulose allein.

4) Lävulose (d-Fruktose) dann Inulin (?) kann als Kohlenstoffquelle überhaupt nicht dienen.

Aus diesem Grunde ist auch Rohrzucker (d-Fruktose + Dextrose) keine ausgesprochen gute Kohlenstoffquelle.

Sonstige Disaccharide verhalten sich je nach den sie bildenden Komponenten.

5) Arabinose (ebenso die sich von ihr ableitenden Produkte) ist eine sehr schlechte Kohlenstoffquelle.

Xylan ist nur eine mäßig gute, den von Dextrose, d-Mannose, d-Galaktose abgeleiteten Stoffen weit nachstehende Kohlenstoffquelle.

Arabin (Pektinstoffgruppe) ist dagegen ein guter Nährboden [?¹].

6) Selbst die Ligninsäuren (absolut rein schwer zu erhalten) sind als Kohlenstoffquelle verwertbar.

V. Schlußbemerkungen.

Coniophora cerebella vermag fast alle aus Holz isolierbaren Stoffe zu verzehren.

Esterartige Bindungen müssen natürlich vorher durch Enzyme (ich nenne dieselben lignolytische) in die Komponenten gespalten werden,

Die für *Coniophora cerebella* erhaltenen Resultate sind auf andere Holzzerstörer nur zum Teil übertragbar, nachdem in der Nahrungsbevorzugung bei Holzpilzen zweifellos sehr große individuelle Unterschiede bestehen.

Wiederholt möchte ich jedoch bemerken, daß meiner Ueberzeugung nach für ausnahmslos alle Holzzerstörer folgende Gesetze gelten:

1) Es wird mehr Holzsubstanz gespalten als zur Nahrung benötigt wird.

Dieses Verhalten kann geradezu als Definition eines holzzerstörenden Pilzes (den auf Holz wachsenden, ja selbst die Holzsubstanz spaltenden, wenig Schaden anrichtenden Schimmelpilzen gegenüber) dienen.

2) Niemals wird unter natürlichen Verhältnissen durch einen Holzzerstörer allein alles Verzehrbares verzehrt; es bleiben stets viel Nährstoffe zurück.

1) Ich vermute eine Verunreinigung des Präparates durch Dextrin.

3) Die Wahrscheinlichkeit, daß irgend ein Bestandteil des Holzes vollständig (für Nahrungs zwecke) verwertet wird und quantitativ verschwindet, ist geradezu Null.

Reinkulturen von *Coniophora cerebella* sind bei Privatdozent Dr. Král in Prag (Kleiner Ring No. 11), dem ich eine Kultur übersendete, erhältlich, so daß der Nachprüfung der von mir erhaltenen Resultate nichts im Wege steht.

Mögen recht bald auch andere Holzzerstörer reingezüchtet und in ähnlicher Weise auf ihr Nahrungsbedürfnis geprüft werden!

Corrigendum.

In der Arbeit von Heinrich Zikes, Ueber Anomalushefen und eine neue Art derselben (Willia Wichmanni) in No. 4/6 des Centralbl. f. Bakt. II. Abt. ist folgender Druckfehler zu berichtigen:

Es soll nämlich p. 103, Zeile 23 statt „welche zwar 10 Proz. Dextrose, nicht aber Lävulose vergärt“ lauten: „welche 10 Proz. Dextrose und Lävulose vergärt“.

Inhalt.

- | | |
|--|--|
| <p>Buhlert und Fickendey, Zur Methodik der bakteriologischen Bodenuntersuchung, p. 399.</p> <p>Fuhrmann, Frans, Zur Kenntnis der Bakterienflora des Flaschenbieres. I. <i>Pseudomonas cerevisiae</i>, p. 309.</p> <p>Gutzzeit, E., Einwirkung des Hederichs auf die Nitrifikation der Ackererde, p. 358.</p> <p>Heinze, Berthold, Einiges über den Schwefelkohlenstoff, dessen Wirkung auf niedrigere pflanzliche Organismen, sowie seine Bedeutung für die Fruchtbarkeit des Bodens, p. 329.</p> <p>Hutchinson, H. B., Ueber Kristallbildung in Kulturen denitrifizierender Bakterien, p. 326.</p> <p>Malenković, Basilius, Ueber die Ernährung holzzerstörender Pilze, p. 405.</p> | <p>Meyer, Arthur, Apparat für die Kultur von Bakterien bei hohen Sauerstoffkonzentrationen, sowie zur Bestimmung der Sauerstoffmaxima der Bakterien species und der Tötungszeiten bei höheren Sauerstoffkonzentrationen, p. 386.</p> <p>Rahn, Otto, Ein Paraffin zersetzender Schimmelpilz, p. 382.</p> <p>Regensburger, Paul, Vergleichende Untersuchungen an drei obergärrigen Arten von Bierhefe, p. 289.</p> <p>Semádeni, F. O., Neue heterözische Rostpilze, p. 385.</p> <p>Will, H. und Wanderscheck, H., Beiträge zur Frage der Schwefelwasserstoffbildung durch Hefe, p. 303.</p> |
|--|--|

Corrigendum, p. 416.

Nachdruck verboten.

Ueber den Einfluss der Stoffwechselprodukte auf das Wachstum der Bakterien.

[Aus dem milchwirtschaftlichen Laboratorium des landwirtschaftlichen Instituts in Göttingen.]

Von Dr. **Otto Bahn.**

Einleitung.

Die Bakterien vermehren sich nur durch Zweiteilung. Aus einer Zelle entstehen 2, aus diesen 4 u. s. f. Die Vermehrung vollzieht sich nach der geometrischen Reihe

$$2^0 \quad 2^1 \quad 2^2 \quad 2^3 \quad 2^4 \quad 2^5 \dots 2^x.$$

Die Vermehrungsgeschwindigkeit wird unter ganz gleichen Bedingungen eine ganz bestimmte Größe haben. In unseren Nährlösungen können wir diese gleichen Bedingungen nur kurze Zeit erhalten; bald wird durch Zersetzung der Nährstoffe eine Aenderung der Ernährungsverhältnisse eintreten, und infolgedessen wird die Vermehrungsgeschwindigkeit geändert. Wir bemerken ganz allgemein anfangs ein kräftiges Wachstum, später eine immer langsamere Vermehrung, schließlich einen Stillstand. Es ist von verschiedenen Autoren beobachtet, daß das Wachstum immer bei einer bestimmten Bakterienzahl pro ccm aufhört, also unabhängig von der Impfmenge ist. Dies ist rechnerisch leicht zu beweisen, wenn man als Grund der Wachstumshemmung entweder Mangel an Nährstoffen oder Anhäufung von Stoffwechselprodukten annimmt.

Nehmen wir im ersten Falle an, daß die Nährstoffmenge zur Bildung von b Bakterien ausreicht, so wird die Endzahl bei Einimpfung von a Zellen $b + a$ sein. Unter normalen Bedingungen wird die Impfmenge so viel kleiner sein als die Endzahl, daß sie, in Anbetracht unserer sehr ungenauen Zählmethoden, gegen b vernachlässigt werden kann.

Der erste Fall ist jedoch bei Laboratoriumsösungen sehr unwahrscheinlich; er kommt dagegen bei den biologischen Wasseruntersuchungen in Betracht. In den künstlichen Nährlösungen, sowie bei der Fäulnis haben wir sehr nährstoffreiche Medien, in denen ebenfalls bei einer bestimmten Bakterienzahl das Wachstum aufhört. Man erklärt dies allgemein durch Anhäufung von Stoffwechselprodukten. — Ich werde im zweiten Teil dieser Arbeit zeigen, daß diese Anschauung einer Modifikation bedarf.

Wir wollen annehmen, in der frischen Nährlösung befinde sich eine Zelle. Dieselbe bildet bis zum Augenblick der vollendeten Zweiteilung die Stoffwechselproduktmenge s . Jede der neu entstandenen Zellen bildet bis zur vollendeten Teilung wiederum die Stoffwechselproduktmenge s . Dies geht so fort, bis die Maximalzahl $b = 2^m$ erreicht ist. Die Summe der gebildeten Stoffwechselprodukte beträgt alsdann

$$\begin{aligned} S &= s + 2s + 2^2 s + 2^3 s + 2^4 s + \dots + 2^m s. \\ &= s (2^0 + 2^1 + 2^2 + 2^3 + \dots + 2^m) \\ &= s (2^{m+1} - 1) \end{aligned}$$

Diese Konzentration S ist die kritische Stoffwechselkonzentration, bei der das Wachstum aufhört, denn wir haben ja angenommen, daß $b = 2^m$ die Maximalzahl sein sollte. Wenn nun nicht, wie im vorigen Beispiel, eine einzige Zelle in die Lösung geimpft wird, sondern $a = 2^i$ Zellen, so wird die Menge der gebildeten Stoffwechselprodukte

$$Sa = s (2^i + 2^{i+1} + 2^{i+2} + \dots + 2^m)$$

sein. Diese Reihe unterscheidet sich von der obigen dadurch, daß hier die Glieder von 2^0 bis 2^{i-1} fehlen. Wenn also in diesem Versuch die Bakterienzahl $b = 2^m$ erreicht ist, so ist die Menge der gebildeten Stoffwechselprodukte noch nicht gleich der kritischen Konzentration S , sondern es fehlt noch die Menge $s (2^0 + 2^1 + 2^2 + \dots + 2^{i-1}) = s (2^i - 1)$.

Demnach können sich also noch $2^i - 1$ Zellen bis zur vollständigen Teilung vermehren; alsdann ist die kritische Stoffwechselproduktkonzentration erreicht und das Wachstum hört auf. Die Zahl der entstandenen Bakterien ist also in diesem Fall $N = 2^m + 2 (2^i - 1)$

$$N = b + 2 (a - 1).$$

Da die Impfmenge gewöhnlich gegen die Maximalzahl sehr klein ist, so ist auch in diesem Falle die Maximalzahl von der Impfmenge praktisch unabhängig.

Es wird im zweiten Teil dieser Arbeit gezeigt werden, daß nicht die Summe aller verschiedenen Stoffwechselprodukte das Wachstum hemmt, sondern ein spezifischer außerordentlich labiler, toxinähnlicher Stoff. Vorher soll noch die Vermehrungsgeschwindigkeit im ersten Wachstumsstadium eingehend behandelt werden.

Das erste Wachstumsstadium.

Man wird a priori vermuten, daß die Bakterien in frischer, noch unzersetzter Nährlösung sich am schnellsten vermehren, also die kleinste Generationsdauer zeigen, während sie später immer langsamer wachsen und nach Erreichung der Maximalzahl langsam absterben. Diese Annahme gilt nicht für die ersten Stunden nach der Ueberimpfung. Es liegen bereits viele Beobachtungen darüber vor, daß nach der Ueberimpfung die Vermehrung kurze Zeit aufhört, dann nach einiger Zeit ein Maximum erreicht, und schließlich langsam auf Null sinkt. Die Dauer der Wachstumshemmung ist sehr verschieden und hängt von der Art des Organismus, seiner Lebensfähigkeit, der Ernährung, der Temperatur, dem Partialdruck des Sauerstoffs und vielen anderen Faktoren ab. Ich will in dieser Arbeit versuchen, diese auffallende Wachstumshemmung zu erklären.

Bei einigen Versuchen über die Anspruchslosigkeit verschiedener Organismen an ihre Nährböden wurde eine Spur Froberg-Hefe in eine Zuckerweinsäurelösung geimpft, die Ammoniak als einzige Stickstoffverbindung enthielt. Nach 4 Wochen war noch kein Wachstum wahrnehmbar. Die Kultur blieb in einem unbenutzten Brutschrank vergessen, nach 8 Wochen zeigte sie kräftiges Hefewachstum. Eine mit *Bacillus prodigiosus* geimpfte Asparaginlösung blieb 4 Wochen scheinbar steril; dann entwickelte sich in wenigen Tagen der *Bacillus* plötzlich sehr üppig mit prachtvoll roter Farbe.

Aehnliche Beobachtungen sind schon häufiger gemacht worden. Ihnen verdankt die „Bios“-Theorie von Wildiers¹⁾ ihre Entstehung. Wildiers fand, daß die Hefe sich in Zuckerlösung nur dann mit Ammoniak als einzige Stickstoffquelle begnügt, wenn sie in sehr großen Mengen übergeimpft wird. Anderenfalls vermehrt sie sich nicht. Sowohl Wachstum wie Gärung wird jedoch durch Zusatz von Hefewasser, Pepton, Fleischextrakt oder Würze hervorgerufen. Wildiers vermutete daher, daß die Hefe bei Ammoniak als einziger Stickstoffquelle nicht existieren könne. Sie brauche vielmehr noch einen besonderen stickstoffhaltigen Körper, das „Bios“, welches in der Hefe selbst, sowie in den oben erwähnten Substanzen vorhanden sei. Bei großen Impfmengen kann die Hefe von dem in ihr enthaltenen Bios leben, sie kann es aber nicht neu bilden.

Kossovitz²⁾ zeigte später, daß sich die Hefe bei einer Einsaat von 200 Zellen pro 100 ccm Zuckermineralsalz-Ammoniaklösung vermehrte. Bei Impfung einer einzigen Zelle fand kein Wachstum statt. In solchen Kulturen, welche wegen zu geringer Impfmenge nicht wuchsen, vermehrte sich die Hefe, wenn gleichzeitig Schimmelpilze oder Kahlhefen in der Lösung wuchsen oder wenn sie vorher darin gewachsen und durch Erhitzen abgetötet waren.

Diese letzte Beobachtung ist nicht gerade besonders merkwürdig; die Schimmelpilze und Kahlhefen können bekanntlich bei guter Kohlenstoffquelle ihr Protoplasma aus den Ammoniaksalzen bilden, und dieses genügt zur Ernährung der Hefen, die Ammoniak allein nicht assimilieren können.

Diese merkwürdigen Tatsachen werden durch einige Versuche von Basenau³⁾ gestützt. Basenau fand bei seinen Untersuchungen über die Baktericide der Milch, daß der *Bacillus bovis morbillificans*, wenn er in Milch geimpft wird, sich anfangs sehr viel langsamer vermehrt als später, daß dies aber auch in Bouillon der Fall sei und nicht auf baktericide Eigenschaften der Milch zurückgeführt werden dürfe. Die baktericiden Eigenschaften der Milch sind inzwischen von König⁴⁾ und Esten wohl einwandfrei bewiesen. Auch scheint mir der *Bacillus bovis morbillificans* als Versuchsobjekt wenig geeignet, da er als pathogener *Bacillus* gegen die natürlichen Milchalixine vielleicht weniger empfindlich ist als andere Organismen. Die Bouillonversuche zeigen jedenfalls die anfängliche Wachstumsverzögerung sehr deutlich.

Das gleiche Ergebnis hatten die Untersuchungen von Max Müller⁵⁾ „Ueber den Einfluß von Fiebertemperaturen auf die Wachstumsgeschwindigkeit und die Virulenz des Typhusbacillus“. Die Generationsdauer beträgt bei 37—40° in einem von 16 Versuchen in den ersten 2—3 Stunden 180 Minuten, in allen anderen ist sie sehr groß oder unendlich, d. h. die Vermehrung ist sehr gering oder gar nicht vorhanden. Nach 6—12 Stunden ist die Generationsdauer dagegen nur 27—40 Min. Müller gibt auch eine Erklärung hierfür: Als Impfmateriale sind stets einige Tage alte Kulturen benutzt worden, in welchen die Zellteilung schon fast vollständig aufgehört hatte. Nun können die Bakterien schon

1) La Cellule. Bd. XVIII. 1901. p. 313. zit. nach Lafar, Handbuch. IV. p. 98.

2) Zeitschr. f. landw. Versuchswesen Oesterreichs. Bd. VI. 1903. p. 27 und 731; zit. nach Lafar, Handbuch. Bd. IV. p. 99.

3) Archiv für Hygiene. Bd. XXIII. 1895. p. 44.

4) Revue générale du lait. T. IV. 1904; Milchwirtsch. Centralblatt. Bd. I. 1905.

5) Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XX. 1895. p. 245.

etwas geschwächt sein, die Zellen sind irgendwie alteriert, und diese Zellen brauchen auf dem neuen guten Nährboden eine gewisse Zeit, um sich von der „zuvor erlittenen Beeinträchtigung ihrer Lebensfunktionen“ zu erholen. Als Beweis hierfür gibt er einige Versuche in einer kleinen Tabelle, die ich hier wiedergebe, um zu zeigen, daß sie nicht volle Beweiskraft besitzt.

Tabelle I (nach Max Müller). *Bacillus typhi*.

| Versuchs- Nummer | Alter der Aus- gangs- kultur Stunden | Versuchs- dauer Minuten | Durchschnittliche Kolonieenzahl | | |
|---------------------|--|-------------------------------|---|---------|---|
| | | | am Anfang des Versuchs in ccm | am Ende | |
| 25 | 2 $\frac{1}{2}$ | 75 | 1398 | 5239 | Generationsdauer 40 Minuten dito dito |
| 26 | 2 $\frac{3}{4}$ | 145 | 166 | 2144 | |
| 27 | 3 | 150 | 6 | 87 | |
| 28 | 6 $\frac{1}{4}$ | 80 | 2150 | 3130 | In 80 Minuten nicht einmal eine Ge- neration |
| 29 | 6 $\frac{1}{4}$ | 85 | 662 | 1095 | In 85 Minuten dito |
| 30 | 14 | 160 | 2454 | 8559 | In 160 Minuten nicht 2 Generationen dito |
| 31 | 16 | 160 | 5 | 16 | |

Während die Versuche No. 26 und 27 2 $\frac{1}{2}$ Stunden dauern, sind No. 28 und 29 schon nach 1 $\frac{1}{3}$ Stunden abgebrochen. Die Versuche sind daher nicht vergleichbar, da bei der längeren Dauer schon das Stadium der kräftigen Vermehrung erreicht werden kann. Außerdem läßt sich mit dieser Annahme nicht erklären, warum die Abimpfung von einer 6-stündigen Kultur, welche sich nach des Verf. Untersuchungen stets im intensivsten Wachstumsstadium befindet, langsamer wächst als die Abimpfung von einer 2—3-stündigen, welche jedenfalls keine schnellere Vermehrung zeigt als die 6-stündige. Meine eigenen Versuche (siehe unten) bestätigen die hier wiedergegebene Ansicht ebenfalls nicht in vollem Umfang. Aus älteren Kulturen abgeimpfte Bakterien vermehren sich freilich langsamer als junge kräftige Kulturen, doch zeigen auch diese stets eine anfängliche Wachstumsverzögerung. Diese Beobachtung genügt also nicht zur Erklärung.

Ebenso findet Hehewerth¹⁾ sowohl bei *Bact. coli* wie *B. typhi* eine kleinere Generationsdauer bei Bakterien aus 24-stündigen Kulturen im Vergleich mit 48-stündigen. Die Unterschiede sind jedoch sehr gering.

Sehr ausführliche Tabellen über die Generationsdauer während der ganzen Entwicklungszeit von Bakterienkulturen gibt Max Müller²⁾. In allen Versuchsreihen bei 5 verschiedenen Bakterien ist bei allen untersuchten Temperaturen stets die anfängliche Wachstumsverzögerung deutlich zu erkennen. Die Versuche zeigen, daß die Verzögerung um so länger dauert, je tiefer die Temperatur ist.

Tabelle II (nach M. Müller).
Eintritt der kürzesten Generationszeit.

| | Bac. A | Bac. B | Bac. C | Bac. D | B. fluorescens |
|--------|---------------|--------------|--------------|--------------|----------------|
| bei 0° | nach 12 Tagen | nach 8 Tagen | nach 8 Tagen | nach 8 Tagen | nach 10 Tagen |
| „ 6° | „ 96 Stund. | „ 108 Stund. | „ 144 Stund. | „ 60 Stund. | „ 96 Stund. |
| „ 12° | „ 32 „ | „ 36 „ | „ 30 „ | „ 12 „ | „ 48 „ |
| „ 25° | „ 11 „ | „ 7 „ | „ 8 „ | „ 7 „ | „ 24 „ |
| „ 30° | „ 12 „ | „ 7 „ | „ 8 „ | „ 7 „ | „ 10 „ |

1) Arch. f. Hygiene. Bd. XXXIX. 1901. p. 321.

2) Arch. f. Hygiene. Bd. XLVII. 1903. p. 127.

Zur Erklärung der Wachstumsverzögerung macht Müller keine Experimente; er verweist nur auf die schon zitierten Arbeiten. Er vermutet aber, daß außer dem Alter der Impfkultur auch die Plasmoptyse¹⁾ eine Rolle bei der Wachstumsverzögerung spielt. Namentlich die mehrfach beobachtete Abnahme der Bakterienzahl in den ersten Stunden, welche nur auf ein Absterben von Bakterien zurückgeführt werden kann, versucht er hierdurch zu erklären. Bei den gewöhnlichen Versuchen pflegt man aber doch entweder stets Bouillon oder stets andere Nährlösungen von annähernd gleichem osmotischen Druck zu benutzen, so daß auch diese Erklärung nicht genügt. Alle meine Versuche sprechen gegen eine Schädigung durch osmotische Einflüsse.

Eigene Versuche.

Bei den nachfolgend beschriebenen Versuchen wurde stets, wenn nichts anderes angegeben ist, *B. fluorescens liquefaciens* benutzt. Ich wählte ihn als Versuchsobjekt, da er schnell wächst, sich infolge der Beweglichkeit in der Nährlösung gleichmäßig verbreitet, sich nach der Teilung schnell von der Schwesterzelle trennt und daher eine genauere Zählung gestattet als die Fadenbakterien. Auch ist er leicht zu erkennen und kann bei Infektionen daher besonders gezählt werden. Als Nährlösung diente stets, mit Ausnahme des ersten Versuchs (Tab. III), die allgemein gebräuchliche Peptonbouillon mit $\frac{1}{2}$ Proz. NaCl. Die Zählung erfolgte nach der Kochschen Plattenmethode; ich benutzte als Nährmedium Peptonbouillonagar, weil die Gelatine zu schnell verflüssigt wurde und weil die Bakterien sehr viel langsamer darauf wuchsen als auf Agar. Die Zählungen sind stets makroskopisch ausgeführt worden; zur Verdünnung der bakterienhaltigen Bouillon benutzte ich Kölbchen mit je 99 ccm sterilem Salzwasser, welches eine Spur $MgSO_4$ zur eventuellen Vermeidung einer Giftwirkung des reinen Salzes enthielt. Die hierdurch erzielten Verdünnungen waren also 10^{-2} , 10^{-4} , 10^{-6} , 10^{-8} . Die Genauigkeit dieser Methode ist natürlich sehr gering, jedoch war die genauere Zählmethode nach Klein²⁾ nicht anwendbar, da ich anfangs nur eine geringe Bakterienzahl hatte, während die Kleinsche Methode nur bei mehreren Millionen pro ccm anwendbar ist. Die von mir angewendete Plattenmethode zählt nur die lebenden Bakterien; das ist jedoch bei diesen Beobachtungen von geringer Bedeutung, da in dem ersten Wachstumsstadium wenig tote Bakterien vorhanden sind. Auch hat Max Müller (l. c.) gezeigt, daß gerade *B. fluorescens liquefaciens* auch in ziemlich alten Kulturen nur sehr langsam abstirbt. Eine sehr große Genauigkeit bei der Zählung ist übrigens auch ganz unnötig, da bei der Berechnung der Generationsdauer ja nicht die Zahlen selbst, sondern nur die Differenz ihrer Logarithmen in Betracht kommt.

Die Generationsdauer wurde nach folgenden Ueberlegungen berechnet: Wenn wir in t Minuten x Generationswechsel haben, so ist die

$$\text{Generationsdauer } y = \frac{t}{x}$$

- 1) A. Fischer, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXXIX. 1900. p. 1.
- 2) Centralbl. f. Bakt. Bd. XXVII. p. 834.

Sind anfangs a , nach t Minuten b Bakterien in einem bestimmten Volum, so ist

$$b = a \cdot 2^x$$

$$\text{oder } x = \frac{\log b - \log a}{\log 2}$$

$$\text{und } y = \frac{t}{x} = \frac{t \log 2}{\log b - \log a}.$$

Im ersten Versuch wurde der Einfluß der Impfmenge auf die Wachstumsverzögerung festgestellt. Es ist dies der einzige Versuch, bei dem die Nährlösung Zucker enthielt. Die Tabelle zeigt sehr deutlich, daß mit steigender Impfmenge (Rubrik III, IV, V) die Wachstumsverzögerung vermindert wird. Als Impfmateriale diente eine etwa 40-stündige Agaroberflächenkultur.

Tabelle III.
Bacillus fluorescens in Traubenzuckerpeptonlösung. Bakterienanzahl pro ccm.

| Flüssigkeitsmenge | I 1000 ccm | II 10 ccm | III 100 ccm | IV 100 ccm | V 100 ccm |
|-------------------|---------------|--------------|----------------|---------------|--------------|
| am Anfang | 30 000 | 30 000 | 3 000 | 30 000 | 3 000 000 |
| nach 6 Stunden | 50 500 | — | [200] | — | 5 280 000 |
| „ 12 „ | 290 800 | 7 610 000 | [200] | 330 000 | 20 000 000 |
| „ 24 „ | 6 430 000 | 82 000 000 | 130 000 | 33 000 000 | 59 000 000 |
| „ 36 „ | 10 000 000 | 180 000 000 | 13 000 000 | 70 000 000 | 82 000 000 |
| „ 53 „ | 8 000 000 | 75 000 000 | 66 000 000 | 110 000 000 | 66 000 000 |
| Generationsdauer. | | | | | |
| | I | II | III | IV | V |
| von 0—6 Stunden | 479 Min. | 90 Min. | [∞] Min. | 210 Min. | 462 Min. |
| „ 6—12 „ | 1616 „ | | [∞] „ | | 187 „ |
| „ 12—24 „ | 61 „ | 210 „ | 132 „ | 108 „ | 461 „ |
| „ 24—36 „ | 1130 „ | 634 „ | 108 „ | 664 „ | 1629 „ |
| „ 36—53 „ | ∞ | ∞ | 435 „ | 1564 „ | ∞ |

Diese Beeinflussung der Wachstumshemmung durch die Impfmenge ist durch die Annahme von Müller, daß sie die Folge von altem Impfmateriale sei, nicht zu erklären. Zur Nachprüfung der Befunde von Müller und Hehewerth machte ich daher die folgenden drei Versuchsreihen. Als Impfmateriale benutzte ich 4 Monate alte Kulturen und Kulturen von 16—24 Stunden; nach dieser Zeit pflegen die Bouillonkulturen ihre größte Vermehrungsintensität erreicht zu haben. Die jungen Impfkulturen wuchsen in derselben Bouillon, in die sie später eingimpft wurden, so daß osmotische Störungen vollkommen ausgeschlossen waren.

In je 25 ccm Bouillon wurde geimpft I. eine 20-stündige Bouillonkultur, II. eine Suspension von einer 20-stündigen Agarstrichkultur in Salzlösung, III. eine 4 Monate alte Bouillonkultur von *B. fluorescens liquefaciens*. Die Zahl der Bakterien zeigt folgende Tabelle:

(Siehe Tabelle IV p. 423.)

Die Bouillonkölbchen standen während des Versuchs im Thermostaten bei 25°.

Die alte Bouillonkultur zeigt ein langsames Wachstum, doch ist der Unterschied nicht groß. Die Wachstumsverzögerung dauert bei allen drei Kulturen gleich lange.

Tabelle IV.

| Impfmateriale | I geimpft mit 20-stündiger Bouillonkultur | II geimpft mit 20-stündiger Agarkultur | III geimpft mit 4 Monate alter Bouillonkultur |
|----------------|--|---|--|
| am Anfang | 29 600 | 2 600 | 2 200 |
| nach 3 Stunden | 19 600 | 2 000 | 1 500 |
| " 6 " | 21 800 | 2 200 | 1 700 |
| " 12 " | 200 000 | 56 100 | 5 500 |
| " 24 " | 770 000 000 | 153 000 000 | 16 000 000 |

Generationsdauer.

| | I | II | III |
|-----------------|--------|--------|--------|
| von 0—3 Stunden | ∞ Min. | ∞ Min. | ∞ Min. |
| " 3—6 " | 1083 " | 1309 " | 997 " |
| " 6—12 " | 113 " | 77 " | 212 " |
| " 12—24 " | 60 " | 63 " | 62 " |

Der Versuch wurde noch einmal wiederholt der scheinbaren Bakteri-
cidie wegen, welche die ganz frische Bouillon zeigte. Zu den drei ersten
Kolumnen kam eine vierte, bei welcher ein Gemenge von alten und
jungen Bakterien benutzt wurde. Die Resultate waren folgende:

Tabelle V.

| | I Bouillonkultur 16 Stunden | II Agarstrich- kultur 16 Stunden | III Bouillonkultur 4 Monate | IV Gemisch von I und III |
|----------------|-----------------------------------|---|-----------------------------------|--------------------------------|
| am Anfang | 118 | 296 | 13 000 | 6 300 |
| nach 3 Stunden | 137 | 370 | 12 800 | 5 200 |
| " 6 " | 247 | 625 | 11 800 | 4 800 |
| " 12 " | 13 500 | 17 100 | 384 000 | 29 000 |
| " 24 " | 26 000 000 | 64 000 000 | 64 000 000 | 45 000 000 |

Generationsdauer.

| | I | II | III | IV |
|-----------------|----------|----------|---------|----------|
| von 0—3 Stunden | 879 Min. | 559 Min. | ∞ | ∞ |
| " 3—6 " | 209 " | 238 " | ∞ | ∞ |
| " 6—12 " | 62 " | 75 " | 72 Min. | 138 Min. |
| " 12—24 " | 66 " | 61 " | 98 " | 68 " |

Die frische Bouillon- und Agarkultur war von der 4 Monate alten
Kultur abgeimpft. Sie waren im Thermostaten bei 24° gewachsen; auch
die geimpften Bouillonkölbchen standen schon mehrere Stunden vor der
Impfung in demselben Brutschrank, um Temperatureinflüsse auszuschalten.
Das Absterben der Bakterien ist hier nicht deutlich nachweisbar, doch
werden wir es in späteren Versuchen noch wiederholt bemerken.

Ein fernerer Versuch zeigte die Entwicklung von Bouillon- und
Agarkulturen, welche beide verhältnismäßig jung waren.

Tabelle VI.

| Impfmaterial | I Bouillonkultur 42 Stunden alt | II Agarstrich- kultur 42 Stunden alt | III Bouillonkultur 16 Stunden alt | IV Agarstrich- kultur 16 Stunden alt |
|----------------|---------------------------------------|---|---|---|
| am Anfang | 5 | 318 | 68 | 1 |
| nach 3 Stunden | 6 | 265 | 148 | 1 |
| „ 6 „ | 13 | 345 | 262 | 1 |
| „ 12 „ | 70 | 1 300 | 8 000 | 31 |
| „ 24 „ | 340 000 | 10 000 000 | 27 000 000 | 125 600 |

Generationsdauer.

| | I | II | III | IV |
|-----------------|-----------|--------|----------|--------|
| von 0–3 Stunden | 6758 Min. | ∞ Min. | 160 Min. | ∞ Min. |
| „ 3–6 „ | 161 „ | 473 „ | 218 „ | ∞ „ |
| „ 6–12 „ | 148 „ | 188 „ | 73 „ | 73 „ |
| „ 12–24 „ | 59 „ | 56 „ | 61 „ | 47 „ |

Diese Versuche zeigen, daß die ältere Bouillonkultur eine stärkere Wachstumshemmung zeigt als die jüngere, daß aber auch bei dieser eine sehr deutliche Hemmung eintritt, welche durch das Alter des Impfmateri- als allein nicht erklärt werden kann.

Da also die Art des Impfmateri als nicht ausschlaggebend war, mußte wohl die Ursache in der Nährlösung gesucht werden.

Es sind hier verschiedene Erklärungen möglich. Die Assimilation der Nährstoffe kann vielleicht erst nach einer vorhergegangenen enzymatischen Spaltung erfolgen; erst wenn die Bakterien eine genügende Menge Enzym ausgeschieden haben, kann schnelles Wachstum stattfinden. Diese Erklärung schien mir sehr wahrscheinlich; sie würde auch die oben zitierten Beobachtungen über das Hefewachstum sehr gut erklärt haben; meine Versuche zeigen jedoch ihre Unhaltbarkeit. Ferner wäre es denkbar, daß die Assimilation bei einem bestimmten Verhältnis von Nährstoffen zu Stoffwechselprodukten am schnellsten vor sich ginge, daß also die Stoffwechselprodukte bis zu einer gewissen Konzentration den Assimilationsprozeß beschleunigten, etwa so wie die Verseifung von Estern durch freie Säure oder die Spaltung von Salicin mittelst Emulsin durch Saligenin und Glukose beschleunigt wird. Eine weitere Möglichkeit zeigten mir die Aufsätze von Delbrück über „die Bedeutung der Enzyme im Hefeleben“, die „Kampfenzyme“ und „körperfremdes Eiweiß“. Vielleicht sind den Bakterien die Bouillonproteine schädlich und müssen erst abgebaut werden, bevor die Assimilation erfolgen kann.

Alle diese Annahmen konnten am besten dadurch geprüft werden, daß ich Bakterien in Bouillon impfte, in der schon einmal Bakterien kurze Zeit gewachsen waren und die nötigen Enzyme ausgeschieden hatten oder die optimale Stoffwechselproduktkonzentration bewirkt oder das körperfremde Eiweiß zerstört hatten. Die Wachstumsverzögerung mußte alsdann verschwinden. Eine solche Nährlösung ist leicht herzustellen, indem man die zersetzte Bouillon durch Ton filtriert. Meine ersten Versuche mit 24-stündiger Fluorescenskultur, die durch Ton filtriert war, zeigten bereits, daß die Annahme falsch war.

1) Wochenschr. f. Brauerei. 1903. p. 226, 269 u. 569; zit. nach Kochs Jahresber. 1903. p. 489.

Tabelle VII.

| | I Tonzellenfiltrat von 24 Stunden zersetzer Bouillon | II Bouillon |
|----------------|--|----------------|
| am Anfang | 592 000 | 520 000 |
| nach 5 Stunden | 1 264 000 | 560 000 |
| " 20 " | 240 000 000 | 96 000 000 |
| " 30 " | 1 700 000 000 | 25 000 000 |

Generationsdauer.

| | I | II |
|-------------|-----|------|
| 0—5 Stunden | 273 | 2835 |
| 5—20 " | 119 | 121 |
| 20—30 " | 212 | ∞ |

Beim zweiten Versuch wurde ein Teil des Tonfiltrats 2 Minuten auf 100° erhitzt, um eventuell darin enthaltene Enzyme zu vernichten. Die Bouillon trübte sich hierbei.

Tabelle VIII.

| | I Tonfiltrat, 24 Std. | II Tonfiltrat, erhitzt | III Bouillon |
|----------------|--------------------------|---------------------------|-----------------|
| am Anfang | 17 000 | 17 600 | 15 600 |
| nach 6 Stunden | 77 900 | 84 400 | 40 100 |
| " 21 " | 110 700 000 | 86 800 000 | 34 200 000 |
| " 30 " | 334 000 000 | 320 000 000 | 136 000 000 |
| " 48 " | 2 396 000 000 | 997 000 000 | 522 000 000 |

Generationsdauer.

| | I | II | III |
|-----------------|----------|----------|----------|
| Von 0—6 Stunden | 164 Min. | 156 Min. | 264 Min. |
| " 6—21 " | 84 " | 90 " | 92 " |
| " 21—30 " | 337 " | 287 " | 271 " |
| " 30—48 " | 380 " | 658 " | 555 " |

Beide Versuche zeigen eine geringe Verminderung in der anfänglichen Wachstumshemmung, welche aber trotzdem sehr deutlich ist. Die minimale Generationsdauer scheint in den Filtraten ein wenig früher eingetreten zu sein als in der unzersetzten Bouillon. Da der Unterschied der Wachstumsgeschwindigkeiten viel geringer war, als ich angenommen hatte, so machte ich zwei weitere Versuche mit Bouillon, in welcher *Bac. fluorescens* bereits 5 bzw. 6 Tage gewachsen war. Da die Bakterien in diesen Kolben sicher die Maximalzahl erreicht hatten, so durfte nach meiner Vermutung in den Filtraten sich der *Bacillus* gar nicht vermehren. Die Bouillon war hier, wie in sämtlichen späteren Versuchen, stets von der gleichen Probe wie das Tonfiltrat, um möglichst gleiche Bedingungen zu haben.

Tabelle IX.

| | I 5-tägige Kultur Tonfiltrat | II Bouillon |
|-----------------|------------------------------------|----------------|
| am Anfang | 1 970 | 5 100 |
| nach 15 Stunden | 3 160 000 | 2 180 000 |
| " 24 " | 94 000 000 | 88 800 000 |
| " 39 " | 2 204 000 000 | 651 000 000 |

Generationsdauer.

| | I | II |
|------------------|---------|----------|
| Von 0—15 Stunden | 85 Min. | 103 Min. |
| " 15—24 " | 110 " | 101 " |
| " 24—39 " | 198 " | 313 " |

Beim folgenden Versuch wurde, wie bei VIII, ein Teil des Filtrats erhitzt. Bei allen weiteren Versuchen wurden die Tonfiltrate sowie die Kontrollkolben stets mit Bakterien von der noch unfiltrierten Bouillon geimpft. Dies Impfmateriel war jedenfalls dem Tonfiltrat ganz vollständig angepaßt, so daß osmotische Störungen absolut ausgeschlossen waren.

Tabelle X.
Bacillus fluorescens.
Bakterienzahl in ccm.

| | I Tonfiltrat 6 Tage | II Tonfiltrat erhitzt | III Bouillon |
|----------------|---------------------------|-----------------------------|-----------------|
| am Anfang | — | 28 720 | 28 840 |
| nach 6 Stunden | 1 600 000 | 29 700 | 35 900 |
| " 21 " | 91 300 000 | 39 500 000 | 39 900 000 |
| " 30 " | 116 000 000 | 207 000 000 | 105 000 000 |
| " 48 " | 330 000 000 | 894 000 000 | 257 000 000 |
| " 72 " | 649 000 000 | 1 928 000 000 | 602 000 000 |
| " 96 " | 625 000 000 | — | 1 144 000 000 |
| " 144 " | 606 000 000 | — | 1 994 000 000 |

Generationsdauer.

| | I | II | III |
|-----------------|----------|-----------|-----------|
| von 0—6 Stunden | — | 7433 Min. | 1139 Min. |
| " 6—21 " | 154 Min. | 87 " | 91 " |
| " 21—30 " | 1541 " | 226 " | 323 " |
| " 30—48 " | 717 " | 512 " | 836 " |
| " 48—72 " | 1474 " | 1299 " | 1172 " |
| " 72—96 " | ∞ | — | 1555 " |

Der letzte Versuch ist insofern verunglückt, als das Tonfiltrat nicht steril war, sondern etwa 1 000 000 Bakterien pro ccm enthielt. Das erhitzte Filtrat war natürlich steril, und die Reihen II und III sind direkt vergleichbar.

Beide Versuche zeigen ganz eindeutig, daß die Bakterien auch in 5 und 6 Tage lang zersetzter Bouillon sich noch sehr lebhaft vermehren, wenn die Bakterien zum größten Teil daraus entfernt werden. Das Aufhören des Wachstums und das Absterben kann also nicht auf einer Anhäufung von Stoffwechselprodukten beruhen. Diese Beobachtung widerspricht so sehr allen Anschauungen über das Bakterienwachstum, daß ich den Versuch nochmals in einer größeren Versuchsserie wiederholte.

6 Kolben wurden mit je 50 ccm Peptonbouillon gefüllt und fraktioniert sterilisiert. Drei von ihnen wurden alsdann gleichzeitig mit Bac. fluorescens geimpft. Nach 4 Tagen wurde eine Kultur durch Ton filtriert. Ein dem Filtrat gleiches Quantum der unzersetzten Bouillon wird aus dem Kontrollkolben genommen und beide Flüssig-

keiten werden mit annähernd gleichen Mengen geimpft. Als Impfmateriale diente die Bouillon, deren größter Teil filtriert war. Dasselbe wurde nach 8 und 12 Tagen mit den andern Kolben wiederholt.

Zugleich wurde der Bakteriengehalt der 3 geimpften Kolben mehrmals festgestellt, um zu prüfen, ob noch eine Vermehrung stattfände.

Tabelle XI.
Bacillus fluorescens.

A.

nach 3 Tagen 1 666 000 000 Bakterien pro ccm
" 4 " 2 600 000 000 " " "

| | I Tonfiltrat 4 Tage | II Tonfiltrat, erhitzt 5 Minuten 100° | III frische Bouillon |
|----------------|---------------------------|---|-------------------------|
| am Anfang | 1 150 | 290 | 420 |
| nach 6 Stunden | 31 700 | 4 300 | 3 900 |
| " 21 " | 98 000 000 | 45 000 000 | 80 000 000 |
| " 30 " | 221 000 000 | 237 000 000 | 343 000 000 |
| " 48 " | 681 000 000 | 618 000 000 | 952 000 000 |
| " 96 " | 1 496 000 000 | 1 422 000 000 | 1 924 000 000 |
| " 144 " | 1 492 000 000 | 702 000 000 | 2 566 000 000 |
| " 192 " | 1 454 000 000 | 754 000 000 | 1 886 000 000 |

Generationsdauer.

| | I | II | III |
|-----------------|---------|---------|----------|
| von 0—6 Stunden | 75 Min. | 93 Min. | 112 Min. |
| " 6—21 " | 78 " | 67 " | 63 " |
| " 21—30 " | 460 " | 225 " | 257 " |
| " 30—48 " | 665 " | 781 " | 733 " |
| " 48—96 " | 2336 " | 2396 " | 2837 " |

B.

nach 6 Tagen 2 868 000 000 Bakterien pro ccm
" 7 " 2 224 000 000 " " "
" 8 " 2 024 000 000 " " "

| | I Tonfiltrat 8 Tage | II Tonfiltrat erhitzt | III frische Bouillon |
|------------------------------------|---------------------------|-----------------------------|-------------------------|
| am Anfang | 570 | 410 | 510 |
| nach 6 Stunden | 2 800 | 1 800 | 1 300 |
| " 22 ¹ / ₄ " | 15 740 000 | 14 740 000 | 15 320 000 |
| " 45 " | 481 000 000 | 453 000 000 | 817 000 000 |
| " 72 " | 877 000 000 | 1 001 000 000 | 1 850 000 000 |
| " 168 " | 1 236 000 000 | 1 366 000 000 | 4 032 000 000 |

Generationsdauer.

| | I | II | III |
|--|----------|----------|----------|
| von 0 —6 Stunden | 157 Min. | 168 Min. | 266 Min. |
| " 6 —22 ¹ / ₄ " | 80 " | 75 " | 72 " |
| " 22 ¹ / ₄ —45 " | 277 " | 276 " | 238 " |
| " 45 —72 " | 1870 " | 1416 " | 1374 " |

C.

nach 11 Tagen 709 000 000 Bakterien pro ccm
 „ 12 „ 754 000 000 „ „ „

| | I Tonfiltrat 12 Tage | II Tonfiltrat erhitzt | III frische Bouillon |
|----------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| am Anfang | 200 | 330 | 80 |
| nach 6 Stunden | 850 | 1 850 | 620 |
| „ 21 „ | 6 270 000 | 10 540 000 | 13 720 000 |
| „ 48 „ | 368 000 000 | 579 000 000 | 537 000 000 |
| „ 72 „ | 498 000 000 | 976 000 000 | 1 337 000 000 |
| „ 120 „ | 686 000 000 | 614 000 000 | 2 600 000 000 |
| „ 168 „ | 763 900 000 | 815 000 000 | 3 074 000 000 |
| „ 264 „ | 1 065 000 000 | — | 1 470 000 000 |

Generationsdauer.

| | I | II | III |
|-----------------|----------|----------|----------|
| von 0—6 Stunden | 173 Min. | 145 Min. | 122 Min. |
| „ 6—21 „ | 70 „ | 74 „ | 62 „ |
| „ 21—48 „ | 276 „ | 280 „ | 306 „ |
| „ 48—72 „ | 3298 „ | 1913 „ | 1094 „ |

Auch diese Versuchsreihe zeigt, daß die anfängliche Wachstums-
 hemmung ebenso wie das spätere vollkommene Aufhören des Wachstums
 nicht als eine Folge der Stoffwechselprodukte anzusehen ist. Osmotische
 Wirkungen sind ebenfalls ausgeschlossen, alle früheren Erklärungsver-
 suche haben sich als unhaltbar erwiesen. Weder Enzyme noch „körper-
 fremdes Eiweiß“ können als Ursache dieser Erscheinung angesehen werden.

Die Ergebnisse aller Versuche mit Tonfiltraten kann man kurz so
 zusammenfassen:

Werden Bakterien in einen sterilen Nährboden geimpft, so beginnt
 die intensive Vermehrung erst nach einigen Stunden. Diese Verzögerung
 des Wachstums ist bei altem Impfmateriel größer als bei frischem, ist
 jedoch auch beim Abimpfen von ganz jungen Kulturen stets deutlich zu
 erkennen. Entfernt man die Bakterien aus der Nährlösung und bringt
 alsdann einen kleinen Teil derselben Bakterien wieder hinein, so ist
 wiederum eine anfängliche Wachstumsverzögerung zu bemerken, selbst
 wenn die Bakterien in der Nährlösung vor der Filtration bereits 12 Tage
 lang gewachsen waren.

Die Nährlösungen vor der Filtration und nach der Filtration und
 Impfung unterscheiden sich nur durch ihren Bakteriengehalt und durch
 die in ihnen gelösten Gase. Während in der Bouillon vor der Filtration
 verhältnismäßig wenig Sauerstoff vorhanden ist, da die große Zahl der
 Bakterien einen Teil des gelösten Sauerstoffs verbraucht, haben wir
 durch Filtrieren durch Ton mit der Vakuumpumpe alle Gase aus der
 Lösung entfernt und Sauerstoff und Stickstoff lösen sich in dem Filtrat
 wie in frischer Nährlösung. Da nun für viele Wasser bewohnenden
 Organismen die normale Sauerstoffspannung nicht die günstigste ist,
 sondern gewöhnlich der Optimaldruck unter dem Normaldruck liegt, so
 versuchte ich dies durch einige Zählungen bei Durchlüftung der Bouillon
 auch für den *Bacillus fluorescens* festzustellen. Während der
 Kontrollkolben in gewöhnlicher Weise wie bei allen bisherigen Versuchen
 auf den durch die Watte diffundierenden Sauerstoff angewiesen war,

wurde durch den zweiten Kolben durch ein in die Flüssigkeit eintauchendes Glasrohr langsam sterile Luft durchgeleitet.

Tabelle XII.
Durchlüftungsversuch I.
28° C.

Geimpft mit einer 18-stündigen Bouillonkultur von *Bac. fluorescens*, die ebenfalls bei 28° gewachsen war. Die Bouillon war die gleiche wie in den Versuchskolben.

| | Erlenmeyerkolben Watteverschluß | do. von der 8. Stunde an Luftdurchleitung | |
|----------------|------------------------------------|--|---------------------|
| am Anfang | 600 | 600 | |
| nach 2 Stunden | 300 | 400 | |
| " 4 " | 1 200 | 1 200 | |
| " 6 " | 3 300 | 2 800 | |
| " 8 " | 9 400 | 11 300 | |
| | | | Durchlüftung |
| " 10 " | 90 000 | 180 000 | |
| " 12 " | 380 000 | 380 000 | + 300 000 Infektion |
| " 14 " | 2 960 000 | 2 750 000 | + 2 170 000 " |
| " 26 " | 1 800 000 000 | 34 000 000 | + 58 000 000 " |
| " 50 " | 2 500 000 000 | 100 000 000 | + 210 000 000 " |
| " 74 " | 4 300 000 000 | 1 300 000 000 | < 1 000 000 " |

Generationsdauer.

| | I | II |
|------------------|---------|---------|
| von 0—2½ Stunden | ∞ | ∞ |
| " 2—4 " | 60 Min. | 82 Min. |
| " 4—6 " | 82 " | 98 " |
| " 6—8 " | 80 " | 60 " |
| " 8—10 " | 37 " | 30 " |
| " 10—12 " | 58 " | 111 " |
| " 12—14 " | 40 " | 42 " |
| " 14—26 " | 78 " | 199 " |
| " 26—50 " | 3038 " | 1138 " |
| " 50—74 " | 1840 " | 3691 " |

Ein wesentlicher Einfluß der Durchlüftung ist nicht zu merken. Die Unregelmäßigkeit in der Generationsdauer bei der 10. Stunde ist wohl nur auf einen besonders großen Fehler bei der Zählung zurückzuführen. Ein weiterer Versuch zeigt ebenfalls, daß ein merklicher Unterschied in der Wachstumsgeschwindigkeit in der ersten Zeit bei durchlüfteten und undurchlüfteten Kolben nicht existiert. Dagegen tritt der Unterschied später deutlich hervor, als der vorher nicht durchlüftete Kolben plötzlich durchlüftet wurde. Die starke Sauerstoffzufuhr bewirkte ein Absterben der Bakterien, während die Sauerstoffentziehung bei dem bisher durchlüfteten Kolben ein Steigen der Wachstumsintensität verursachte. Kohlensäure zeigte einen stark entwicklungshemmenden Einfluß.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Betrachtungen über die Standorte der Mikroorganismen in der Natur, speziell über die der Krankheitserreger.

Von Privatdozent Dr. **Hugo Mische**, Leipzig.

Ueber die Standorte der Bakterien wissen wir nur sehr wenig. Wir isolieren mittels üblicher Nährböden verschiedene Formen aus Luft, Staub, Wasser, Erde etc., züchten sie auf denselben üblichen Nährböden weiter und vergessen fast, daß es auch außerhalb der Reagenzgläschen Orte in der Natur geben muß, wo die einzelnen Arten ebenso üppig wachsen und gedeihen, wo sie ihren Standort haben ebensogut wie die Pflanzen, von denen einige nur in Wäldern, andere in Sümpfen, wieder andere nur auf kalkhaltigen Böden angetroffen werden. Unsere Bemühungen, die Bakterien mit der Plattenmethode aus den verschiedensten Medien hervorzulocken, haben nur einen scheinbaren Erfolg. Wir zeigen wohl die Existenz lebensfähiger Keime auf diese Weise, ob aber das, was auf den Platten wächst, wirklich seinen Standort, z. B. im Boden hatte und dort ein charakteristischer Bestandteil der Mikroflora ist, bleibt zweifelhaft.

Näher kommen wir unserem Problem schon dann, wenn wir zur Untersuchung bestimmter Mikrofloren besondere, den natürlichen Verhältnissen des Substrates angepaßte Nährböden verwenden, z. B. Bodenextrakte etc. Aber ein noch genaueres Bild würden uns die Elektivkulturen im Sinne Winogradskys geben, die mit so großem Erfolg beim Studium bakteriologisch-chemischer Vorgänge in der Natur benutzt wurden. Die Cellulose zersetzenden Bakterien, die in dichten Schwärmen den zerfallenden Fasern des Fließpapiers anliegen in derartigen Kulturen, die Pektinzerstörer, die sich an den Flachsstengeln entwickeln, werden wir an ähnlichen Lokalitäten in der Natur einheimisch annehmen dürfen. Doch läßt sich auf diese Weise oft nur die chemische, nicht auch die physikalische Seite der Lebensbedingungen nachahmen. Neben den Kulturen in Flüssigkeiten und Agar resp. Gelatine sind auch solche auf Fließpapier, Gips, Pflanzenteilen, Sand etc. zu studieren.

Etwas läßt sich auch durch systematische Ernährungsversuche erreichen. Die Feststellung derjenigen chemischen Stoffe, welche üppiges Wachstum ermöglichen und welche besonders charakteristisch verändert werden, gibt einen gewissen Anhalt für Rückschlüsse auf natürliche Standorte. Es fehlt jedoch in derartigen Versuchen ein sehr wichtiges Moment, nämlich die Konkurrenz, die noch viel feinere Nuancen in der Lebensweise bedingt, als wir etwa künstlich nachahmen können. Das aus reinem Saatgut auf gereinigtem Acker gezogene Getreide dominiert hier, wächst äußerst üppig, wie die Bakterien im Fleischwasser-Pepton-Agarröhrchen, wird jedoch sehr bald verschwinden, sobald das Feld der Brache überlassen wird, um vielleicht an ganz anderer Stelle einen bescheidenen Standort zu erobern. Ebenso wenig können wir vermuten, daß die Bakterien unserer bakteriologischen Laboratorien etwa dem Fleischwasser ähnliche Substrate auch in der Natur bewohnen. Ein anderes Beispiel möge hier

noch Platz finden. Der Heubacillus (*Bac. subtilis*) entwickelt sich in größter Ueppigkeit in einem Heudekott, den wir zur Unterdrückung der Konkurrenz aufgeköcht haben. Man könnte nun schließen, daß der Heubacillus in der Natur auf faulenden Pflanzen anzutreffen wäre. Läßt man jedoch eine Hand voll Heu in Wasser faulen, ohne zu erhitzen, so entsteht ebenfalls sehr bald eine starke Trübung, aber es ist nicht der Heubacillus, sondern der *Bac. coli*, der in großen Schwärmen auftritt und unbestritten dominiert. Nur vereinzelt läßt sich der Heubacillus nachweisen, nur spärliche Zoogloen erscheinen mit der Zeit an der Oberfläche. Unsere obige Behauptung, der Heubacillus habe seinen Standort an faulenden Pflanzen, ist also in dieser Form nicht richtig, und wir müssen einfach eingestehen, wir wissen gar nicht, wo der Heubacillus in der Natur wächst. Von dem *Bac. coli* könnten wir schon mit mehr Zuversicht vermuten, daß einen seiner Standorte faulende Pflanzen, vielleicht in den ersten Stadien ihrer Zersetzung, darstellen.

Ziemlich leicht können wir die Standorte der Mikroorganismen feststellen, die, leicht kenntlich, schon mit bloßem Auge sichtbare Kolonien oder Schwärme bilden, wie die Schimmelpilze, die weißlichen und rötlichen Ueberzüge an faulenden alten Blättern etc. im Wasser, die die Kolonien der Schwefelbakterien darstellen, die rötlichen Wolken in demselben Standort, die uns das Mikroskop mit Sicherheit als Chromatien enthüllt. Mikroskopisch kann man direkt nur sehr wenige Bakterien identifizieren, verhältnismäßig leicht z. B. *Spirillum undula*, das wir direkt als Bewohner stark fauliger Sumpfwässer mikroskopisch erkennen, oder die oft in demselben Sumpfwasser auftretende, sehr charakteristische Kolonie der *Zoogloea ramigera*. Sind aber die Kolonien nicht auffällig und ist die Form der Individuen nicht charakteristisch, so wachsen die Schwierigkeiten sofort. Ja, wenn man mit einem Fernrohr von 2000-facher Vergrößerung das Kleinleben in der Natur aufsuchen und beobachten könnte!

Wir wissen also so gut wie nichts über die Wohnstätten der meisten Mikroben in der Natur, das Gebiet der Mikrobengeographie ist noch terra incognita, ganz zu schweigen von der ätiologischen Seite dieser vorderhand noch hypothetischen Wissenschaft. Denn von den Ursachen, die das Auftreten dieser oder jener Mikroben an diesem oder jenem Punkte bedingen, wissen wir nichts.

Und doch ist die Mikrofloristik von der allergrößten Bedeutung, und jeder Versuch, durch kritisch-umsichtige systematische Züchtungsversuche, Elektivkulturen, direkte Beobachtung etc. unsere Kenntnis auf diesem Gebiete zu erweitern, von höchstem Interesse nicht nur für den Biologen, sondern ganz besonders für den Hygieniker.

Für die Aetiologie und die Prophylaxe der Infektionskrankheiten ist ja die Kenntnis der natürlichen Standorte der pathogenen Keime von fundamentaler Bedeutung. Leider ist unsere Kenntnis auch hier sehr gering, so fein auch die Teilfrage über die Verbreitung widerstandsfähiger Dauerformen durch eine Unzahl mühsamer Untersuchungen ausgearbeitet ist.

Schon über die erste und wichtigste Frage, ob ein fraglicher Krankheitskeim seinen Standort nur im Organismus oder aber auch in der Natur hat, steht wenig Sicheres fest, da man auf indirekte Schlüsse angewiesen ist und eine zuverlässige Methodik zum Aufsuchen der Keime in den natürlichen Standorten eben fehlt. Sicher gibt es

pathogene Formen, die, wie der Bandwurm, ausschließlich Parasiten sind, sicher auch solche, die in der freien Natur wachsen und sich vermehren.

Zwei Gesichtspunkte spielen in dem Abwägen des pro und contra eine große Rolle, nämlich die Ansprüche der Mikroben an die Ernährung und an die Temperatur. Das Studium der Ernährungsbedingungen, besonders wenn es in steter Berücksichtigung eventueller natürlicher Verhältnisse auf möglichst verschiedenartige Substrate ausgedehnt wird, ist in der Tat geeignet, wichtige Anhaltspunkte zu geben. Doch sind es gewiß nicht immer die den menschlichen Säften möglichst ähnlich gemachten Substrate, die den Erfolg bedingen, wie z. B. sich beim Tuberkelbacillus gezeigt hat, dessen Züchtung anfangs so große Schwierigkeiten machte, den man aber später sogar auf Kartoffeln, Kohlrabi und sehr einfach zusammengesetzten künstlichen Substraten kultivieren lernte.

Wichtiger noch als die Ernährungsansprüche der pathogenen Mikroben sind ihre Temperaturansprüche bei der Beurteilung des vorliegenden Problems. Alle im Körper der Warmblüter gedeihenden Mikroorganismen lassen sich außerhalb des Körpers auch am besten bei der Temperatur des Blutes züchten, also bei Temperaturen um 40° herum. Einige, wie der Choleravibrio, das Milzbrandbakterium, der Typhusbacillus u. a. wachsen auch bei gewöhnlicher Temperatur, jedoch unvergleichlich viel langsamer, einige, wie der Tuberkelbacillus, gedeihen überhaupt nicht unter 30°. Er ist ein echter Thermophile, während wir die anderen als psychrotolerante Thermophile bezeichnen könnten. Von den Thermophilen kann man ohne weiteres behaupten, daß sie ihre Standorte nur an solchen Stellen haben können, wo Temperaturen von 30°—40° erreicht werden. Aber auch für die anderen müssen wir diese Temperaturgrade fordern. Denn für diese Frage gilt wieder das, was schon vorher bei Erörterung der Ernährungsansprüche betont wurde: Das Fortkommen von pathogenen Mikroorganismen bei Zimmertemperatur in Reagenzröhrchen besagt noch keineswegs, daß sie irgendwo auch in der Natur bei derselben Temperatur sich vermehren und wachsen können. Man kann sogar mit ziemlicher Sicherheit behaupten, daß dies nicht der Fall ist; denn bei dem erbitterten Kampf um die Existenz, der in der Welt der Kleinen mit derselben Heftigkeit geführt wird, wie in der der Großen, gewinnt dasjenige Wesen den Vorsprung, das unter gegebenen Verhältnissen am raschesten wächst und dadurch seinen Konkurrenten die Nahrung wegnimmt, bzw. sie im Aufstreben durch rasch gebildete schädliche Stoffwechselprodukte unterdrückt. Wenn also unter sonst gleichen Bedingungen die gewöhnlichen, bei niedrigeren Temperaturen gedeihenden Pilze, Bakterien etc. mit solchen zusammentreffen, die, halb in Kältestarre, nur langsam wachsen, so ist es keinen Moment zweifelhaft, wer unterliegt. Aber noch mehr. Dieselben Ueberlegungen gelten auch für die Temperaturen zwischen 30° und 40°. Bis 35° wachsen die meisten sehr verbreiteten Bakterien und Pilze noch üppig, während die pathogenen Formen eigentlich erst hier anfangen, einigermaßen flott zu wachsen. Wir können also sagen, daß diejenigen pathogenen Mikroorganismen, welche ihr Optimum bei Bluttemperatur haben, auch nur hier erfolgreich der Konkurrenz standhalten können; hier haben sie es dann allerdings verhältnismäßig leicht, da nur wenige der bei gewöhnlichen Temperaturen wachsenden Formen bei 35°—40° noch rasch sich vermehren können. Bei diesen Fragen entscheidet in letzter Linie überhaupt gar nicht das Minimum oder Maximum der Temperatur, sondern allein das Optimum. Die beiden anderen Kardinalpunkte haben mehr physiologisches Interesse

als biologisches, wenn wir einmal von der hygienisch-praktischen Bedeutung der Temperaturextreme für Abtötung vegetativer Formen absehen wollen.

Wollen wir also den Versuch machen zu diskutieren, ob gewisse ihr Optimum bei Bluttemperatur findenden Parasiten der Warmblüter einen Standort in der freien Natur haben können, so spitzt sich unser Problem auf die Frage zu: Gibt es Temperaturen von ca. 35—40° in der freien Natur? Die gibt es nun unzweifelhaft. Im Sommer werden gelegentlich solche Temperaturen erreicht, der bestrahlte Boden wird sogar wohl oft noch wärmer. In diesem Falle ist jedoch (ganz abgesehen von der schädlichen Wirkung direkter Besonnung) eine wichtige Bedingung nicht verwirklicht, nämlich die Feuchtigkeit, ohne die ein Wachstum von Mikroben gänzlich ausgeschlossen ist. Höchstens in den Tropen könnte die Wärme der Sonne eine Bedingung für das Wachstum pathogener Keime werden, wie man z. B. vom Choleravibrio mit viel Grund vermutet, daß er ein tropischer Wasserbacillus ist, der in Indien gewiß in Flüssigkeiten gelegentlich sein Optimum von 30—40° antrifft, aber auch bei uns in heißen Sommern im Wasser Temperaturen findet, bei denen er lebhaft zu wachsen beginnt und mit anderen Wasserbakterien erfolgreich konkurrieren kann, nämlich solche von 22—25°. Wie weit dies auch für andere pathogene Bakterien zutrifft, inwieweit es also unter ihnen tropische und vielleicht wegen ihres hohen Temperaturoptimums sich leicht in den Körper der Warmblüter eingewöhnende Mikroben gibt, wollen wir hier einstweilen dahingestellt sein lassen.

Damit würden wir die Möglichkeiten, die sich zunächst aufdrängen und die auch gewöhnlich allein in Betracht gezogen sind, erschöpft haben, und es scheint von diesem Gesichtspunkte aus ganz logisch, wenn wir an vielen Orten in der medizinischen Literatur lesen, das hohe Optimum dieses oder jenes pathogenen Keimes schließe die Möglichkeit der Vermehrung in der freien Natur außerhalb des kranken Körpers aus. Als eine Stimme unter vielen will ich hier nur diejenige des Autors anführen, der in Kollé-Wassermanns Handbuch der pathogenen Mikroorganismen über die Möglichkeit des Tuberkelbacillus, in der freien Natur zu wachsen (Bd. II. 1903. p. 106), sagt: Weit empfindlicher noch sind die Kulturen gegen Schwankungen der Temperatur. Das Optimum liegt bei 37° und 38°, über 42° und unter 30° hört die Entwicklung völlig auf. . . . Es erhellt somit, daß die Vermehrung der Bacillen unter natürlichen Verhältnissen durchaus an den Organismus des Warmblüters gebunden ist, der Tuberkelbacillus ist also ein obligater Parasit.“ Aehnliche Aeüßerungen werden wiederholt gemacht (siehe z. B. noch p. 142) und ich glaube annehmen zu können, daß dieser Standpunkt in diesen und ähnlichen Fragen der herrschende in der modernen Bakteriologie und Hygiene ist.

Es gibt nun aber noch eine andere Möglichkeit in der freien Natur, die pathogenen Formen ein Wachstum gestattet und die, soweit es mir möglich war, die medizinische Literatur auf diesen Gegenstand zu durchsuchen, gänzlich übersehen oder nie genug betont wurde, die aber von der allergrößten Bedeutung für die Aetiologie von Krankheiten sein kann. Diese Möglichkeit ist an Stätten eröffnet, wo Pflanzensubstanzen, in größeren Mengen zusammengehäuft, eine Gärung erleiden, die mit ansehnlicher Wärmebildung verbunden ist. Ich denke hier in erster Linie an die Selbsterhitzung des Mistes und des Heues, zwei Prozesse, die in ihrem Wesen ganz identisch sind. In der Tat ist an solchen Stellen, wo

Massen von Pflanzenstoffen sich selber erwärmen, in besonders idealer Weise in dem mit organischen Stoffen stark durchsetzten Mist und Dünger, der Entwicklungsfaktor Wärme mit denen der Feuchtigkeit und reichlichen organischen Nahrung vereinigt, und wenn irgendwo, so haben wir hier nach den Standorten pathogener Mikroorganismen zu suchen.

Zu dieser Ueberzeugung, auf die ich an dieser Stelle die Aufmerksamkeit lenken möchte, hat mich eine Untersuchung über die Selbsterwärmung feuchter Pflanzenstoffe, besonders des Heus, geführt, die demnächst an anderer Stelle erscheinen wird. Es interessierte mich zunächst nur die physiologische Seite des Problems. Ich fand, daß die Erhitzung auf Atmungstätigkeit von Mikroorganismen beruhe, und bei der systematischen Durchsichtung fermentierten Heus nach Mikroorganismen entdeckte ich neben einigen Formen, die nur für das Selbsterhitzungsproblem Bedeutung haben und unter denen der Erreger der Erhitzung, ein thermophiler Bacillus, der wichtigste ist, einige andere Mikroorganismen, die teils als pathogene bekannt sind, teils in hohem Grade verdächtig sind. Der erste ist der *Aspergillus fumigatus*, der bekanntlich einer der gefährlichsten und häufigsten Erreger der sogenannten Aspergillusmykosen ist, die nicht nur die verschiedensten Vogelarten, sondern auch den Menschen und die Haustiere befallen¹⁾. Bei den Vögeln tritt die Infektion des Pilzes am häufigsten und schwersten als Pneumomykosis auf, d. h. der Pilz entwickelt sich in den Atmungswegen der Lunge und den Luftsäcken. Tauben, welche Aspergillussporen inhiabierten, zeigen schon nach 2—3 Tagen ein schweres Krankheitsbild. Von den Menschen werden besonders die Taubenfütterer ergriffen, doch ist eine Invasion der Lungen seltener, während hingegen Erkrankung des Ohres (*Otomykosis aspergillina*) durch Festsetzung des *Aspergillus* im äußeren Gehörgang gar nichts Seltenes ist²⁾. Außer dem *Aspergillus fumigatus*, der als der gefährlichste Pilz gilt, sind auch noch andere Aspergillen pathogen. Entsprechend seinen pathogenen Eigenschaften wächst der *Aspergillus fumigatus* am besten bei höheren Temperaturen, etwa bei 40°. Er findet sein Maximum über 50°, wächst aber auch, wenngleich langsam, noch bei Zimmertemperatur. Man begegnet ihm jedoch selten in spontanen Schimmelkulturen, kann ihn aber jederzeit in üppigster, jede andere Schimmelkonkurrenz überwindender Kultur bekommen, wenn man Brot oder ähnliche Substanzen bei einer Temperatur von 40° im Thermostaten hält. Es entsteht dann ein schön blauer Rasen, der sich später ins rauchbraune verfärbt.

Wir haben also hier einen pathogenen Schimmelpilz vor uns, der zuerst von seinem Entdecker *Fresenius* (1841) aus dem kranken Körper beschrieben wurde, dessen Sporen sehr verbreitet und dessen natürlicher Standort zweifellos die warmen Heu- und Mistmassen sind (vielleicht auch in Vogelnestern?). Ich fand ihn, entsprechend den Angaben *Cohns*³⁾, zuweilen in größten Massen in meinen Experimenten, die ich zum Zweck der Selbsterhitzung anstellte.

Der zweite Mikroorganismus tritt ebenfalls in größten Mengen im warmen Heu auf, unterscheidet sich aber vom *Aspergillus fumigatus* dadurch, daß er überhaupt nicht bei Zimmertemperatur wächst, selbst nach einer Woche nicht, aber bei 40° in 24 Stunden bereits die

1) *Renon*, Études sur l'aspergillose chez les animaux et chez l'homme. Paris 1897.

2) *Siebenmann*, Die Schimmelmykosen des menschlichen Ohres. Wiesbaden 1889.

3) *Cohn*, F., Ueber thermogene Wirkung von Pilzen. (66. Jahresber. d. Schles. Gesellsch. f. vaterl. Kultur. 1889. p. 150.

dichtesten Rasen bildet. Es ist ebenfalls ein Schimmelpilz, der *Mucor pusillus*, welcher von Lindt¹⁾ zwar nicht direkt von kranken Körper gezüchtet wurde, der aber doch auf Kaninchen pathogen wirkte und in seinen Wirkungen dem früher von Lichtheim²⁾ gefundenen und von Cohn genau beschriebenen *Mucor corymbifer* nicht nachsteht. Letzterer wurde auch von Siebenmann³⁾ im menschlichen Ohr gefunden. Ihn sowohl wie den ebenfalls von Lichtheim entdeckten pathogenen *Mucor rhizopodiformis* habe ich nicht im Heu gefunden, ich zweifle jedoch nicht, daß auch sie hier ihren natürlichen Standort haben.

Wenngleich nun die Mucormykosen⁴⁾, abgesehen von wenigen Fällen, keine große Rolle unter den Krankheiten spielen, so ist doch die Auffindung des pathogenen *Mucor pusillus* in dem fermentierten Heu jedenfalls nicht ohne Bedeutung.

Das meiste Gewicht möchte ich jedoch auf einen Befund legen, den ich zum Schluß erwähnen möchte. Im warmen Heu und auch im Mist findet man weiße mehligte Flecke oft in großer Menge, welche über die Stengel und Blätter wie Spritzer verteilt sind. Ich habe diesen Mikroorganismus rein kultiviert und fand, daß es ein *Actinomyces* war von all den charakteristischen Eigenschaften, die diese noch wenig bekannte Pilzgattung auszeichnet. Ich acceptiere den Namen *Actinomyces* als den bei weitem bezeichnendsten und muß den sonst üblichen *Streptothrix* aus von Savageau und Radais⁵⁾ angeführten Gründen ablehnen, ohne jedoch aus nicht näher zu erörternden Gründen ihren Namen *Oospora* zu adoptieren. Die Actinomyceten sind weit verbreitete Pilze, von denen einige Vertreter im Menschen- und Tierkörper gefunden werden, bei der Actinomycosis bovis und humana, beim farcin du boeuf, dem Madurafuß und anderen. Auf die nach Berestneff⁶⁾ die Pseudoactinomykosen bewirkenden anderen Erreger, die vom *Actinomyces* morphologisch vielfach abweichen, sei hier keine Rücksicht genommen. Die Frage, wie die in dem Körper gefundenen Actinomyceten mit den in der Natur nachgewiesenen morphologisch mit ihnen sehr weitgehend übereinstimmenden Formen zusammenhängen, ist schwer zu entscheiden, da das Tierexperiment hier fast vollkommen im Stich läßt. Berestneff⁷⁾ und Gasperini⁸⁾ sind aber der Ansicht und haben es zum Teil auch nachgewiesen, daß einige sicher Actinomykosen verursachen können.

Bei der Verbreitung, die diese Krankheit unter dem Vieh und auch unter der Landbevölkerung hat, ist auch hier die Frage, wo die Actinomyceten in der Natur vorkommen, von größter Bedeutung. Ein Teil, der schon bei Zimmertemperatur lebhaft wächst, kommt wahrscheinlich nicht in Betracht, wie z. B. der *Actinomyces chromogenes*, der

1) Lindt, W., Mitteilungen über einige neue pathogene Schimmelpilze. (Archiv f. experiment. Pathol. u. Pharmakol. Bd. XXI. 1886. p. 272.)

2) Lichtheim, Zeitschrift für klinische Medizin. Bd. VII. 1884. p. 148.

3) l. c.

4) Vergleiche die zusammenfassende Darstellung von Barthelat, G. J., Les mucorinées pathogènes et les mucormycoses chez les animaux et chez l'homme (Pariser Doktorthese. Paris 1903.)

5) Savageau, C. und Radais, M., Sur les genres Cladothrix, Steptothrix, Actinomyces etc. (Annales de l'institut Pasteur. T. VI. 1892. p. 242.)

6) Berestneff, Aktinomykose und ihre Erreger. (Dissertation Moskau, 1897), sowie Ueber Pseudoaktinomykose. (Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten. Bd. XXVIII. 1898. p. 94.)

7) l. c.

8) Gasperini, Versuche über das Genus Actinomyces. [Mitteilungen aus dem 11. internationalen medizinischen Kongreß in Rom.] (Centralbl. f. Bakt. Bd. XV. 1894. p. 684.)

sehr verbreitet im Erdboden ist und ihm den charakteristischen Erdgeruch verleiht. Er soll nach Beijerinck¹⁾ hauptsächlich an vermodernden Wurzeln vieler Pflanzen gedeihen und hier seinen natürlichen Standort haben.

Daß aber auch die pathogenen Actinomyceten in der Natur wachsen können, machen verschiedene Beobachtungen sehr wahrscheinlich. Einmal gelang es Poncet und Bérard²⁾ den echten Actinomyces auf Getreidekörnern zur Entwicklung zu bringen, wo er in Form gelblich-weißer Kolonien wuchs. Dasselbe gelang Berestneff, der auf Strohstückchen den von künstlichen Kulturen genommenen Actinomyces sich zu weißlichen, pulverigen Kolonien entwickeln sah. Spontan erhielt letzterer³⁾ auch diese Flecken, wenn er Stroh- und Getreidestückchen in feuchten Sand steckte und im Thermostaten hielt. Es traten dann bald neben anderen Organismen verschieden gefärbte kreidige Flecke auf, von denen einige ganz und gar mit den echten Actinomyces-Kolonien übereinstimmten.

Diese Versuche, sowie die wenig kritischen Liebmanns⁴⁾ waren mit der Absicht angestellt, den Pilz auf demjenigen Material aufzusuchen, welches nach übereinstimmenden Urteilen aller Beobachter der Hauptvermittler der Infektion ist, nämlich auf den scharfen Grannen, Spelzen und sonstigen Teilen des Getreides. Fast immer haben sich solche Gegenstände nachweisen lassen, wo in den Lippen und besonders in der Zunge (Holzzunge) des Rindviehes Actinomyces-Knoten sich befanden⁵⁾.

Doch ist durch Poncet, Bérard und Berestneff faktisch nur gezeigt, daß auf dem Getreide Keime haften und daß sie in günstige Bedingungen versetzt, sich auf einem solchen vegetabilischen Stoffe vermehren können. Die Konsequenzen für ihren natürlichen Standort haben sie, so nahe sie auch lagen, nicht gezogen, die günstigen Bedingungen in der Natur übersehen. Liebmann meint, der Actinomyces bovis bewohne lebende Pflanzen, wenn man auch äußerlich nichts wahrnehmen könne; doch ist seine Ansicht so phantastisch, daß wir uns mit ihr hier nicht zu befassen brauchen. Ein Epiphyt ist der Actinomyces ganz gewiß nicht. Wie vermöchte er sich wohl auf der lebenden grünen Pflanze zu vermehren und zu ernähren, wenn er nicht etwa auch hier ein Parasit ist?

Interessieren tun uns aber seine Experimente aus einem anderen Grunde. Er bestrich Getreidesamen und andere mit Actinomycesmasse aus Reinkulturen und ließ sie in einem Topf mit Erde auskeimen. Er konnte dann, wenn die Pflanzen herangewachsen waren, aus verschiedenen Teilen wieder seinen Actinomyces züchten. Dies zeigt uns also, daß in der Tat aus dem Boden Keime auf die Pflanzen übergehen können, aber auch nichts mehr.

Auch der von mir isolierte Actinomyces wächst unter 30° nicht,

1) Beijerinck, Ueber Chinonbildung durch Streptothrix chromogena. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VI. 1900. p. 2.)

2) Poncet und Bérard, Traité clinique de l'actinomycose humaine etc. Paris 1898. vergl. Tafel II. Fig. 2b und c.

3) l. c. 1898. Siehe Fig. 6.

4) Liebmann, V., L'actinomycose dell'uomo. (Archivio per le scienze mediche. Vol. XIV. 1890. p. 361.)

5) Boström, Berliner klinische Wochenschrift 1885. Verhandlungen des 4. Kongresses für innere Medizin. Wiesbaden 1885. Beiträge zur pathologischen Anatomie und zur allgemeinen Pathologie 1890.

hat aber das verhältnismäßig hohe Temperaturmaximum von 58°. Bei 40° wächst er äußerst üppig und bedeckt die Fläche des Heudekoktagars (auf dem ich alle meine Heuorganismen züchte) in 24 Stunden mit einer Menge staubiger, kreidiger, weißer Kolonien.

Auf alle morphologischen Details muß ich hier verzichten, sie sollen an der angegebenen Stelle mitgeteilt werden.

Ich meine, die Vermutung, daß auch der echte *Actinomyces* seinen Standort im Heu hat, wo ich eine ihm morphologisch äußerst ähnliche Form nachgewiesen habe und besonders im Mist, wo ich oft genug die sehr charakteristischen weißen Flecken an heißen Stellen bemerkte, ist wohl begründet und verlohnt sich einer genaueren Prüfung, mit der ich mich eben beschäftige. Mit dem Mist kommen die ungeheuren Sporenmassen (die übrigens interessanterweise auf Fleischwasserpeptonagar nur äußerst spärlich auftreten) auf den Acker. Hier gelangen sie leicht auf alle Teile der Pflanzen, ohne natürlich hier etwa auszuweichen. Verletzungen mit den scharfen Teilen der Gramineen führen dann die bereit liegenden Sporen in die Gewebe, wo sie auskeimen und die Drusen erzeugen. Die Spelzen und Grannen sind also nur zufällige, vermöge ihrer Struktur besonders geeignete Ueberträger, mit der Biologie des Pilzes haben sie nichts zu tun.

Aus diesen Beispielen ist zu ersehen, daß die Wärme von fermentierenden Pflanzenmassen als entwickelungsermöglichender Faktor bei pathogenen Organismen eine Rolle spielt, die genau zu untersuchen sich wohl lohnt. Welche Organismen außer den oben angeführten hier besonders aufzusuchen wären, ist jetzt noch kaum zu beurteilen. Auf einen möchte ich aber noch zum Schluß die Aufmerksamkeit lenken, nämlich auf den Tuberkelbacillus, der in so manchen Punkten verwandtschaftliche Beziehungen zu den Actinomyceten aufweist, und der wie diese das Rindvieh und den Menschen befällt, wengleich es ja noch eine Streitfrage ist, ob für die beiden Arten von Tuberkulose ein oder zwei Arten von Erregern anzunehmen sind. Nahe Verwandte von ihm sind von Moeller¹⁾ an Futtergräsern nachgewiesen, bewohnen sie aber selbsverständlich nicht, wie dieser Autor sich gelegentlich ausdrückt. Sollte sich die Möglichkeit erweisen lassen, daß der Tuberkelpilz auf dem Mist resp. auf ähnlichen Fermentationswärme entwickelnden Stoffen gut gedeihen kann, so ist ein starkes Argument gewonnen für die Ansicht, daß auch er im Stallmist seinen natürlichen Standort hat und hier vielleicht eigenartige Entwicklungsstufen durchmacht. Ich bin damit beschäftigt, auch diese Frage zu prüfen.

Sollten sich unsere Vermutungen in größerem Umfange bestätigen, so würde sich Berthelots²⁾ Vergleich zwischen dem sich selbst erheizenden Heuhaufen und dem Rindvieh, das das Heu frißt, um ein überraschendes Vergleichsmoment bereichern lassen. Grade wie das Rindvieh, sagt Berthelot etwa, atmet der Heuhaufen Sauerstoff ein und gibt Kohlensäure ab, grade wie das Tier, erwärmt ihn diese physiologische Verbrennung, und — so fügen wir hinzu oder vielmehr hoffen wir hinzufügen zu können — diese Wärme brütet im Tier wie im Heu dieselben Mikroben aus.

1) Moeller, Mikroorganismen, die den Tuberkelbacillen verwandt sind und bei Tieren miliäre Tuberkelkrankheit verursachen. [Vorläufige Mitteilung.] (Deutsche medizinische Wochenschrift. 1898. p. 376)

2) Berthelot, Recherches sur les échanges gazeux entre l'atmosphère et les plantes séparées de leur racines et maintenues dans l'obscurité. (Compt. rend. de l'acad. Paris. T. CXVII. 1893. p. 1039.)

Nachdruck verboten.

Vergleichende Untersuchungen an drei obergärigen Arten von Bierhefe.

Von Dr. Paul Regensburger.

Mit 3 Tafeln, 9 Figuren und 4 Kurven.

(Schluß.)

Die Beobachtung der Hautbildung in ihrer Abhängigkeit von der Temperatur bot also nicht allein Gelegenheit, etwaige Unterschiede in dieser Beziehung zwischen den drei behandelten obergärigen Bierhefen festzustellen, sondern ermöglichte auch die Beantwortung der Frage, ob auch bei den obergärigen Hefen ähnliche Zellelemente bei der Bildung und Entwicklung der Häute auftreten, wie die von Will beobachteten und in vorstehendem kurz geschilderten Hautgenerationen bei den untergärigen Bierhefen. Allerdings war es bei den drei obergärigen Hefen nicht ohne Schwierigkeit, den Beginn der Hautbildung zu konstatieren. Wenn auch bei den Laboratoriumsversuchen die Eigenschaft der obergärigen Hefen, eine sehr hefereiche Schaumdecke bei der Gärung zu bilden, nicht immer in gleich starkem Maße hervortrat, so befand sich immerhin nach Beendigung der Hauptgärung eine so große Anzahl bald kleinerer, bald größerer Zellen der Bodensatzform an der Oberfläche der gärenden Flüssigkeit, daß eine sichere Diagnostizierung des Beginnes der Hautbildung nur durch das Auftreten von kleineren Zellformen oder durch die Bildung kleiner Hefeinseln nicht möglich war. Es wurde vielmehr erst dann der Beginn der Hautbildung als sicher erachtet, wenn kleine glykogenhaltige Zellen mit schwacher Membran und homogenem Inhalt, an einer größeren Zelle der Bodensatzform in größerer Zahl gleichzeitig hervorsprossend, beobachtet werden konnten. Auf diese Weise gelang es, den Beginn der Hautbildung so genau wie möglich festzustellen.

Die Vorbereitung der Kulturen für die Beobachtung der Hautbildung geschah im allgemeinen nach den Angaben, welche Hansen ¹⁾ gemacht hat. Die drei obergärigen Hefen wurden einige Male in frischer Bierwürze gezüchtet, zuletzt 24 Stunden vor dem Anlegen der Hautkultur. Dann wurden sie in Erlensmeyer-Kölbchen überimpft, welche ca. $\frac{1}{4}$ l Würze enthielten und nach der Sterilisation im strömenden Dampf noch 14 Tage zur Lüftung der Würze stehen geblieben waren. Nach erfolgter Impfung wurde der Wattebausch der Kölbchen, wie üblich, abflambiert und mit sterilem Filtrierpapier überbunden. Hierauf blieben die Kölbchen bei der beabsichtigten Beobachtungstemperatur ruhig im Thermostaten stehen. Die Versuche erfolgten meistens in 4-facher Ausführung, in einzelnen Fällen wurden die Beobachtungen in 8—10-facher Ausführung zu verschiedenen Zeiten wiederholt. Hierbei konnte jedesmal eine genügende Uebereinstimmung in den Resultaten erhalten werden.

Was die Entwicklung der Haut bei den beobachteten drei obergärigen Bierhefen Rio, 25 und 170 betrifft, so war sie in den Grundzügen bei

1) Hansen, E. Chr., Ueber die Kahmhäute bei der Gattung *Saccharomyces*. (Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. 1886. p. 379.)

allen drei Hefen die gleiche und zeigte keinerlei Unterschiede von den bei der Hautbildung untergäriger Bierhefen auftretenden Erscheinungen, soweit sie makroskopisch festgestellt werden können. Bei den drei Oberhefen zeigten sich bald nach dem Zurückgehen der durch die Gärung erzeugten Schaumdecke kleine, weiße, trocken aussehende Hefeflecke, welche allmählich größer wurden und sich schließlich zu einer je nach dem Alter der Kultur mehr oder weniger dicken, weißgelben, rahmartigen Haut vereinigten. Diese Haut bedeckte die Oberfläche der Nährflüssigkeit fast vollständig, wurde jedoch schon bei der geringsten Erschütterung auseinander gerissen, wobei namentlich die unteren Teile in Fetzen zu Boden sinken. Gleichzeitig mit der Bildung der Haut erfolgt auch in den meisten Fällen rings an der Wand des Kulturgefäßes der Oberfläche der Würze folgend die Bildung eines „Heferinges“, wie dies auch bei untergärigen Hefen der Fall ist. Derselbe nimmt seinen Ursprung von den Ausscheidungen der Schaumdecke bei der Gärung, welche am Glase haften geblieben waren, bleibt zunächst auf einige Hefeflecke beschränkt, die sich aber mehr und mehr ausbreiten, so daß nach geraumer Zeit ein geschlossener Ring entsteht, der in alten Kulturen, welche erst nach etwa einem Jahr zur Beobachtung kamen, eine Höhe von 4—6 mm und eine Dicke von 2—3 mm erreicht hatte. Nicht selten war in alten Kulturen durch Verdunstung die Oberfläche der Würze derart gesunken, daß der Hefering einige Millimeter von ihr entfernt war und seinen Zusammenhang mit der Haut scheinbar vollständig verloren hatte. Die Zellelemente, welche sich sowohl an der Zusammensetzung der Haut als auch an dem Aufbau des nach Will¹⁾ ihr vollständig äquivalenten Heferinges beteiligen, sollen im folgenden eingehender beschrieben werden.

Die in den nachstehenden Tabellen verzeichneten Beziehungen zwischen dem Beginn der Hautbildung und der Temperatur bei den beobachteten drei obergärigen Hefen resultierten nur aus Versuchen, welche in der oben erwähnten Art in Erlenmeyer-Kölbchen mit ca. 12-proz. Braunbierwürze angestellt wurden. Mehrfache Versuche mit Rundkölbchen, Freudenreich-Kölbchen und Pasteur-Kolben ergaben, daß die Form der Wandungen der Kulturgefäße nicht ohne Einfluß auf die Ausbildung der Haut und insbesondere des Heferinges ist. Auch zeigten Versuche mit höher konzentrierten Würzen (17 Proz. Ball.), daß starke Konzentration der Nährlösung das Wachstum der Haut ziemlich verlangsamt; in den meisten Fällen fanden sich bei 25° auch nach mehrwöchiger Beobachtungsdauer nur Fragmente einer Hautbildung auf höher konzentrierten Würzen vor, der Hefering dagegen war zu besonders starker Entwicklung gediehen. Geringere chemische Unterschiede in der Zusammensetzung der Nährlösung, wie sie durch die Verwendung von Braunbier- oder Weißbierwürze bedingt sind, hatten keinen wesentlichen Einfluß auf die Bildung und Entwicklung der Haut und des Heferinges.

Für die einzelnen Hefen ergaben sich nachstehende Daten, wobei bemerkt sein möge, daß die beigetzten Temperaturen sowie die Zeitangaben nur abgerundete Mittelwerte darstellen.

1) Will, H., Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. (Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. 1895. p. 20.)

Oberhefe Rio.

37—38°. Nach vierwöchentlicher Beobachtung konnte weder Haut- noch Ringbildung konstatiert werden.

34—45°. Am 6. Tage: Beginn der Ringbildung.

Am 9.—15. Tage: Schwache Hautbildung vom Ringe aus. Auftreten schwach entwickelter Hefeinseln mit zahlreichen echten Hautzellen, letztere häufig gestreckt-oval.

Nach 25 Tagen sind in der rahmartigen Haut wenige wurstförmige Zellen mit zarter Membran und homogenem Plasma zu beobachten.

32—33°. Am 6. Tage: Entwicklung eines Heferinges.

Am 8.—12. Tage: Schwache Hautinseln, vom Ringe aus sich bildend. Echte Hautzellen von ovaler und gestreckter Form, in größerer Zahl „morgensternartig“ an größeren Zellen der Bodensatzform sitzend.

Nach 25 Tagen treten in der gut entwickelten Haut Sproßverbände wurstförmiger Zellen (1. Hautgeneration) auf.

29—30°. Am 4. Tage: Beginn der Heferingbildung.

Am 7.—9. Tage: Ziemlich häufig kleine Hefeinseln sowohl vom Ringe aus als auch in der Mitte der Würzeoberfläche sich bildend. Echte Hautzellen sind zahlreich vorhanden.

Nach 13—17 Tagen treten in der stark entwickelten Haut große Sproßverbände wurstförmiger zarter Hautzellen auf.

27—28°. Am 3. Tage: Beginn der Ringbildung.

Am 6.—9. Tage: Bildung zahlreicher typischer Hefeinseln mit gestreckt-ovalen und ovalen Hautzellen.

Nach 11—14 Tagen kann in der dicken rahmartigen Haut die Bildung großer Sproßverbände aus zarten wurstförmigen Zellen der 1. Hautgeneration beobachtet werden.

24—25°. Entwicklung eines Heferinges.

Am 10.—15. Tage: Ziemlich häufig kleine Hefeinseln, größtenteils auf der Mitte der Würzeoberfläche. Echte Hautzellen der 1. Generation.

Nach 16—20 Tagen erfolgt die Bildung größerer Sproßverbände zarter wurstförmiger Zellen.

21—22°. Am 5. Tage: Beginn der Ringbildung.

Am 10.—17. Tage: Anfang der Hautbildung mit echten ovalen Hautzellen.

Nach 19—25 Tagen sind gestreckt-wurstförmige Zellen in der gut entwickelten Haut zu beobachten. Im Hefering finden sich nicht selten runde Zellen mit verdickter Membran, Glykogengehalt und zahlreichen Oelkörperchen (Dauerzellen).

17—18°. Am 7. Tage: Ringbildung.

Am 15.—20. Tage: Auftreten einiger Hefeinseln mit echten Hautzellen.

Nach 25 Tagen hat sich eine mäßig starke Haut mit zahlreichen echten Hautzellen, meist von ovaler Form, gebildet. Vereinzelt treten große Sproßverbände wurstförmiger zarter Zellen auf. Im Hefering Dauerzellen.

14—15°. Am 10. Tage: Schwache Ringbildung.

Am 17.—23. Tage zeigen sich Hefeinseln mit echten Hautzellen.

Nach 4 Wochen ist die Haut ziemlich stark entwickelt. Vereinzelt Sproßverbände zarter wurstförmiger Zellen. Im Hefering Dauerzellen.

11—12°. Nach 20 Tagen schwach entwickelter Hefering.

Nach 4 Wochen zeigen sich einzelne Hefeinseln mit kleinen ovalen Hautzellen. Langgestreckte wurstförmige Zellen sind in dieser Zeit nicht zu beobachten. Der Hefering besteht größtenteils aus Dauerzellen.

8—9°. Nach sechswöchentlicher Beobachtung waren nur schwache Ringfragmente vorhanden, die aus Zellen mit verdickter Membran und größeren Vakuolen bestanden.

5—6°. Nach 6 Wochen weder Haut- noch Heferingbildung.

Oberhefe 25.

37—38°. Nach 4 Wochen weder Hefering noch Hautbildung.

34—35°. Nach 3 Wochen wurden einzelne Hefeflecke am Flüssigkeitsrande konstatiert; echte Hautzellen sind indessen nicht nachzuweisen.

32—33°. Am 8.—12. Tage: Ringbildung nicht vorhanden. Vereinzelte Hefeinseln mit echten Hautzellen 1. Generation, teils oval, teils kurz wurstförmig mit sehr zarter Membran (Länge 10—12 μ , Breite 2—3 μ).

Nach 4 Wochen sind vereinzelt sproßverbände gestreckt-wurstförmiger Zellen (Länge 15—20 μ) mit zarter Membran und homogenem Inhalt zu beobachten.

29—30°. Am 6.—10. Tage: Ringbildung ist nicht vorhanden. Hefeinseln mit echten ovalen Hautzellen.

Nach 14—18 Tagen treten in der gut entwickelten Haut große sproßverbände gestreckt-wurstförmiger Zellen auf.

27—28°. Am 5.—10. Tage: Sehr schwache Andeutung einer Ringbildung. Auftreten von Hefeinseln mit echten Hautzellen.

Nach 12—17 Tagen sind in der gut entwickelten Haut zahlreiche sproßverbände gestreckt-wurstförmiger Zellen zu beobachten.

24—25°. Am 6.—10. Tage treten Hefeinseln mit echten Hautzellen auf. Ringbildung kaum vorhanden.

Nach 15—20 Tagen ist die Haut gut entwickelt. Große sproßverbände wurstförmiger Zellen. Vereinzelt Dauerzellen.

21—22°. Am 9.—15. Tage: Bildung von Hefeinseln mit echten Hautzellen. Ringbildung fehlt.

Nach 17—25 Tagen ist in der stark entwickelten Haut das Vorkommen von großen sproßverbänden wurstförmiger zarter Zellen zu beobachten. Schwacher Hefering; derselbe besteht größtenteils aus Zellen mit verdickter Membran (Dauerzellen).

17—18°. Am 12.—17. Tage ist schwache Ringbildung zu beobachten. In der Mitte der Würzeoberfläche vereinzelt Hefeinseln mit echten Hautzellen.

Nach ca. 3 Wochen ist in der ziemlich gut entwickelten Haut das Auftreten zarter wurstförmiger Zellen in großen sproßverbänden zu konstatieren. Im Ring Dauerzellen.

14—15°. Am 16.—20. Tage ist nur sehr schwache Ringbildung vorhanden. Vereinzelt Hautinseln mit echten Hautzellen.

Nach 2 Monaten besteht die schwach entwickelte Haut größtenteils aus Zellen mit verdickter Membran. Zarte wurstförmige Zellen, zumal in sproßverbänden, sind selten.

11—12°. Nach 3 Wochen ist schwache Ringbildung vorhanden. Keine Hautinseln. Im Ring echte Hautzellen in reichen sproßverbänden. Wurstförmige zarte Zellen sehr selten. Zahlreich sind Dauerzellen, größtenteils rund. Nach 1 Monat einzelne Hautflecke.

8—9°. Nach sechswöchentlicher Beobachtung weder Ring- noch Hautbildung.

5—6°. Ebenfalls nach 6 Wochen kein Anzeichen von Haut- oder Heferingbildung.

Oberhefe 170.

37—38°. Nach 4 Wochen ist weder eine Hautbildung noch ein Hefering zu konstatieren.

34—35°. Am 5. Tage: Beginn der Ringbildung.

Am 9.—13. Tage: Hefeinseln mit echten Hautzellen (spitzoval und birnförmig). Im Ring befinden sich häufig Zellen mit wurst- und birnförmigen Tochterzellen.

Nach 4 Wochen ist der Ring sehr stark, jedoch ungleichmäßig entwickelt. Im Hefering befinden sich runde bis ovale Zellen mit verdickter Membran, deren Plasma durch große Vakuolen stark reduziert ist. Zahlreiche langgestreckte Zellen mit zarter Membran und homogenem Plasma (oft Birn- und Keulenform).

32—33°. Am 5. Tage: Beginn der Heferingbildung.

Am 7.—11. Tage: Einzelne Hefeinseln, viele Bodensatzzellen, jedoch auch echte Hautzellen enthaltend.

Nach 16—20 Tagen ist die Haut gut entwickelt, sie enthält große Sproßverbände zarter wurst- und birnförmiger Zellen. Im Hefering auch Zellen mit verdickter Membran und großen Vakuolen.

29—30°. Am 4. Tage: Ringbildung.

Am 6.—10. Tage: Zahlreiche Hefeinseln mit echten Hautzellen.

Nach 15—18 Tagen sind in der mäßig starken Haut große Sproßverbände von zarten wurst- und birnförmigen Zellen vorhanden. Oft dickwandige Zellen mit reduziertem Plasma.

27—28°. Am 4. Tage: Beginn der Ringbildung.

Am 7.—10. Tage: Hefeinseln mit echten Hautzellen.

Nach 15—20 Tagen treten in der gut entwickelten Haut langgestreckte Formen auf. Im Hefering runde und ovale Zellen mit dicker Membran und großen Vakuolen.

24—25°. Am 5. Tage: Anfang der Heferingbildung.

Am 9.—12. Tage: Hefeinseln mit echten Hautzellen.

Nach 18—25 Tagen sind Haut und Hefering gut entwickelt. Sproßverbände wurst- und birnförmiger Zellen. Im Ring auch Zellen mit verdickter Membran und großen Vakuolen.

21—22°. Am 6.—7. Tag: Beginn der Ringbildung.

Am 11.—15. Tage: Hefeinseln mit echten Hautzellen.

Nach 20—25 Tagen starker Ring und mäßig starke Haut. In letzterer befinden sich große Sproßverbände zarter wurstförmiger Zellen. Im Ring auch runde und ovale Zellen mit verdickter Membran.

17—18°. Am 6.—7. Tage: Beginn der Heferingbildung.

Am 14.—18. Tage: Beginn der Hautbildung; echte Hautzellen.

Nach 4 Wochen ist Ring und Haut stark entwickelt. Große Sproßverbände wurstförmiger Zellen und runde oder ovale Zellen mit verdickter Membran und reduziertem Plasma.

14—15°. Am 10. Tage: Entwicklung des Heferinges.

Am 17.—25. Tage: Entwicklung schwacher Hautinseln vom Ring aus; echte Hautzellen.

Nach 4 Wochen ist die Haut nur mäßig entwickelt; selten größere

wurstförmige Zellen. Der stark entwickelte Hefering besteht größtenteils aus runden Zellen mit verdickter Membran.

11—12°. Am 16.—20. Tage: Beginn der Heferingbildung mit echten Hautzellen.

Nach 6 Wochen zeigen sich einzelne Hautflecke. Auch nach 14 Monaten ist eine stärkere Entwicklung der Haut, die fast ausschließlich aus echten Dauerzellen besteht, nicht zu konstatieren. Hefering stark entwickelt.

8—9°. Nach 6 Wochen schwache Ringbildung. Echte Hautzellen sind nur selten zu beobachten.

5—6°. Nach 6 Wochen ist weder Haut noch Hefering vorhanden.

Bei einer Vergleichung dieser drei Tabellen geht zunächst hervor, daß die drei obergärigen Hefen bei den Temperaturen von 30—25° wenig Unterschiede hinsichtlich des Beginnes der Hautbildung zeigen; nur Hefe 25 weist eine geringe Neigung auf, rascher zur Hautbildung überzugehen als die Hefen Rio und 170. Hinsichtlich des Optimums, Maximums und Minimums für die Hautbildung ergaben sich jedoch bemerkenswerte Unterschiede. Stamm Rio und Stamm 170 zeigen schon bei 34—35° schwache Hautbildung, bei Stamm 25 liegt dagegen das Temperaturmaximum wesentlich niedriger (etwa bei 32—33°). Das Temperaturminimum liegt für die Oberhefen Rio und 25 etwa bei 11°, für Hefe 170 vielleicht etwas niedriger (9°). Hinsichtlich des Temperaturoptimums für die Hautbildung ist Oberhefe 170 von den Hefen Rio und 25 verschieden, da erstere Hefe bei 29—30°, letztere beiden bei 27—28° am frühesten Anfänge zur Hautbildung zeigen. Es ergeben sich in dieser Beziehung also im allgemeinen ähnliche Verhältnisse wie bei der Sporenbildung.

Nach dem von Hansen¹⁾ aufgestellten Gesetz sind auch für die drei obergärigen Hefen Rio, 25 und 170 die Temperaturmaxima und die Temperaturminima für die Sprossung höher bzw. tiefer als die für die Hautbildung, dagegen liegen die Temperaturgrenzen für die Sporenbildung innerhalb derjenigen für die Hautbildung.

Als charakteristischer Unterschied für Oberhefe 25 kann ihre geringe Neigung zur Bildung eines Heferinges gelten, besonders bei höheren Temperaturen. Es mag dies darauf zurückzuführen sein, daß Hefe 25 an und für sich weniger die Erscheinungen der Obergärung zeigte als die beiden anderen Hefen, vor allem Hefe 170, obwohl sie im übrigen eine ausgesprochene obergärige Hefe war. Infolgedessen scheint das Absetzen von Hefezellen der Alkoholgärungsform am Rande der Würzeoberfläche nicht in dem Maße bei Hefe 25 stattzufinden, daß sich schon vor der Hautbildung das Auftreten eines Heferinges erkennen läßt. Während also bei den Oberhefen Rio und 170 die Hautbildung durch die Entwicklung eines Heferinges eingeleitet wird, scheint bei Stamm 25 die Bildung des Ringes erst nachträglich von der Haut aus zu erfolgen. Im übrigen war nahe dem Temperaturminimum für die Hautbildung bei allen drei Hefen lediglich die Entwicklung eines mehr oder weniger zusammenhängenden Heferinges und höchstens die Bildung einiger Hautfragmente zu beobachten. Dies zeigte sich besonders an Parallelkulturen der drei Hefen, welche über 1 Jahr lang bei einer Temperatur von 8

1) Hansen, E. Chr., Die Kahmhäute der Gattung *Saccharomyces*. (Zeitschrift für das gesamte Brauwesen. 1886. p. 374 u. ff.)

bis 10° gestanden hatten und auch nach dieser Zeit noch so gut wie keine Hautentwicklung aufwiesen.

Die Hautbildung war bei allen drei Oberhefen eine sehr intensive, bei den Temperaturen, 30—18° war oft die ganze Oberfläche der Würze mit einer gleichmäßigen, dicken, weißgelben Haut bedeckt, von deren Unterseite einzelne Fetzen herabhingen und bei der geringsten Erschütterung, oft auch spontan zu Boden sanken. Die frühzeitige Entwicklung einer starken Haut bildet für die drei obergärigen Hefen einen bemerkenswerten Unterschied gegenüber den untergärigen Arten, wie sie von Will¹⁾ beobachtet wurden, ebenso scheinen bei den obergärigen Hefen die oberen Temperaturgrenzen — ebenso wie für die Sporenbildung — auch für die Hautbildung höher zu liegen, da die vier untergärigen Stämme Wills bei Temperaturen von wenig über 30° keine Hautbildung mehr aufweisen. Die unteren Temperaturgrenzen liegen aber bei diesen untergärigen Stämmen im allgemeinen etwas tiefer als bei den drei obergärigen Hefen. In nachstehender Tabelle sind die betreffenden Zahlen zusammengestellt, wobei besonders die schon bei der Sporenbildung auftretende Aehnlichkeit der Oberhefe 25 mit der untergärigen Hefe 7 der Willschen Untersuchungen besonders auffällt. Ebenso wie bei der Sporenbildung sind auch hier die von Hansen²⁾ ermittelten Kardinalpunkte der Temperatur für die Hautbildung bei *Saccharomyces cerevisiae* E. Chr. Hansen angegeben.

| Bezeichnung der Hefe | | Temperaturmaximum | | Temperaturoptimum | | Temperaturminimum | | |
|----------------------|-------------|----------------------|-------|-------------------|-------|--|-------|------------|
| | | ° C | Zeit | ° C | Zeit | ° C | Zeit | |
| Hefen | obergärige | Rio | 34—35 | 9—15 Tage | 27—28 | 6—9 Tage | 11—12 | 4 Wochen |
| | | 25 | 32—33 | 8—12 " | 27—28 | 5—10 " | 11—12 | 3 " |
| | | 170 | 34—35 | 9—13 " | 29—30 | 6—10 " | 8—9 | 6 " |
| | untergärige | Sacch. cerev. Hansen | 33—34 | 9—18 " | 20—22 | 7—10 " | 6—7 | 2—3 Monate |
| | | Stamm 93 (Will) | 31 | 18 " | 25 | 9 " | 7 | 3 " |
| | | " 2 " | 30 | 13 " | 26 | 5 " | 7 | 31 Tage |
| " 6 " | 30 | 13—20 " | 25 | 7—11 " | 7 | 1—3 ¹ / ₂ Monate | | |
| " 7 " | 28 | 16—21 " | 25 | 5—9 " | 7 | 31—38 Tage | | |

Soweit die Verschiedenheit der Versuchsanstellung und der Beobachtungsdauer Schlüsse zulassen, tritt also tatsächlich die Hautbildung bei den obergärigen Hefearten bei höheren Temperaturen und in kürzerer Zeit ein als bei den untergärigen Arten der Bierhefe.

Hinsichtlich der Zellelemente, welche bei den drei obergärigen Hefen in den verschiedenen Entwicklungsstadien der Haut auftreten, bestehen zwischen denselben nur sehr geringe Unterschiede. Lediglich die Form der Zellen konnte einige Anhaltspunkte ergeben.

Bei der Oberhefe Rio waren bei Beginn der Hautbildung in den Hefeflecken, welche nach der Hauptgärung zurückgeblieben waren, noch zahlreiche Zellen der Alkoholgärungsform vorhanden. Diese Hefeflecke waren gelbbraun gefärbt, erst nach einiger Zeit begannen sie eine weiß-

1) Will, H., Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. (Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. 1905. p. 25 ff.)

2) Hansen, E. Chr., Ueber die Kahmhäute bei der Gattung *Saccharomyces*. (Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. 1886. p. 381.)

gelbe Farbe und mehr schleimige Beschaffenheit anzunehmen. In diesem Stadium sind kleine ovale bis kurz-wurstförmige Zellen vorherrschend, ihre Länge beträgt 7—9 μ , der Breitendurchmesser 4—5 μ , bei den wurstförmigen Zellen noch weniger. Diese wurstförmigen Zellen sind besonders bei höheren Temperaturen zu beobachten; wie ja überhaupt Hefe Rio bei höherer Temperatur eine Tendenz zur Streckung der Zellen zeigt. Die Zellmembran ist im Unterschied von der Membran der in den Kräusenauscheidungen zurückgehaltenen Bodensatzzellen sehr zart, der Zellinhalt im allgemeinen homogen und stark glykogenhaltig. Diese zartwandigen Zellen mit homogenem Plasma sprossen aus den in den Hautinseln befindlichen Bodensatzzellen oder deren Tochterzellen hervor, meist drei bis vier an einer Zelle, oft auch in größerer Anzahl, besonders in jungen Ringbildungen, so daß die Mutterzellen oft sternartig von den kleineren zartwandigen Zellen besetzt sind. Diese letzteren entsprechen also vollständig den bei den untergärigen Bierhefen auftretenden gleichgestalteten Zellen bei den Anfängen der Hautbildung, die von Will als 1. Generation der Hautzellen bezeichnet werden.

Im Laufe der weiteren Entwicklung der Haut treten nach bestimmter Zeit die Zellen der Alkoholgärungsform fast vollständig zurück, so daß die Hautzellen der 1. Generation beinahe ausschließlich die Haut zusammensetzen. Doch machen sich bald auch andere Formen bemerkbar. Nach 2—3 Wochen bei mittlerer Temperatur werden in der inzwischen stark ausgebildeten Haut große Sproßverbände langgestreckter wurstförmiger Zellen sichtbar. Diese sind 3—4 μ breit, 12—15 μ lang, besitzen zarte Membran, im Anfang auch homogenen stark lichtbrechenden Inhalt und zeigen deutliche Glykogenreaktion. Diese Eigenschaften, sowie die nicht selten zu beobachtende Abstammung von kleinen ovalen Hautzellen weisen darauf hin, daß diese Sproßformen ebenfalls noch als Hautzellen 1. Generation anzusprechen sind. Uebrigens kommt es nicht selten vor, daß einzelne dieser wurstförmigen Zellen ihrerseits wieder kleine ovale Hautzellen erzeugen. Diese sprossen meist aus den Schmalseiten der langgestreckten Zellen hervor; ihre Ansatzstelle ist auch nach dem Abfallen durch eine kurze „sterigmenähnliche“ Ausstülpung der Mutterzelle kenntlich (p. 448, Fig. 6a).

Der Hefering besteht bei Beginn der Hautbildung fast ausschließlich aus Zellen der Bodensatzform, welche stark verdickte Membran und körnigen Zellinhalt, oft auch größere Vakuolen besitzen. Bei Beginn der Entwicklung von Hautzellen 1. Generation werden diese auch häufig im Hefering beobachtet. Doch treten nach einiger Zeit neue Zellelemente auf. Es sind dies Zellen von runder oder wenigstens runderlicher Form und der Größe der Bodensatzzellen. Ihre Membran ist stark verdickt, das Zellplasma enthält eine größere Anzahl von „Oelkörperchen“, die sich oft gerade gegen einen bestimmten Platz in der Zelle zusammendrängen, Vakuolen sind klein und relativ selten, der Gehalt an Glykogen ist meist deutlich nachzuweisen. Diese Zellen sind die ersten Repräsentanten einer Zellform, welche in späteren Stadien der Hautbildung bei Oberhefe Rio oft ausschließlich auftritt und nach allen morphologischen und physiologischen Merkmalen den „Dauerzellen“ der vier untergärigen Sorten Wills entsprechen. Die genauere Begründung der Identität dieser Zellen mit den Dauerzellen soll im 2. Teil dieses Abschnittes erfolgen.

Der Beginn der Hautbildung bei Oberhefe 25 vollzieht sich im all-

gemeinen ebenso wie bei der Hefe Rio. Bemerkenswert ist hier, wie schon hervorgehoben wurde, daß die Ringbildung eine spärliche ist und in vielen Kulturen gar nicht auftritt. Die Hautzellen 1. Generation zeigen alle charakteristischen Merkmale, zarte Membran, homogenes Plasma und starken Glykogengehalt. Sie sprossen ebenfalls zahlreich an einzelnen Zellen hervor, welche die Größe und Form der Bodensatzzellen besitzen und neben reicher Vakuolisierung eine geringe Verdickung der Zellmembran aufweisen. Sie sind rund bis oval, 5–6 μ groß und oft in ziemlich langen Sproßverbänden vereinigt. In den Vakuolen älterer Hautzellen befinden sich oft Vakuolenkörperchen (Granula). Ebenso wie bei Oberhefe Rio treten nach einiger Zeit in der stark entwickelten weißgelben Haut Sproßverbände langer wurstförmiger Zellen mit zarter Membran und homogenem, glykogenhaltigem Plasma auf. Sie messen etwa 12 μ in der Länge und 2–3 μ in der Breite. In älteren Häuten sind sie so gut wie gar nicht zu finden, sie kommen nur kurz nach Vollendung der Hautbildung vor. Ihre Abstammung aus unzweifelhaften Hautzellen 1. Generation, sowie das Aussprossen solcher aus ihnen, kennzeichnet sie als Elemente, welche ebenfalls noch der 1. Generation der Hautzellen angehören. Sie verschwinden verhältnismäßig frühzeitig, um einem neuen Element in der Entwicklung der Haut Platz zu machen, den Dauerzellen, welche ebenso wie bei der Oberhefe Rio in sehr typischer Form, sowohl in den Häuten als auch im Hefering älterer Kulturen zahlreich auftreten.

Oberhefe 170 zeigt die Erscheinungen der Obergärung von allen drei Hefen am deutlichsten, die Schaumdecke bei der Gärung ist sehr hefereich und so kommt es, daß beim Zurückgehen des Schaumes bereits ein deutlich ausgeprägter Ring, der fast ganz geschlossen ist, an der Wand des Kulturkolbens sichtbar wird. Doch ist derselbe noch aus Zellen der Bodensatzform zusammengesetzt, welche meist eine geringe Verdickung der Membran aufweisen. Erst mit Beginn der eigentlichen Hautbildung treten sowohl im Ring wie in den an der Würzeoberfläche zurückgebliebenen Hefeflecken zahlreiche zartwandige Zellen mit homogenem Plasma und starkem Glykogengehalt auf, also echte Hautzellen 1. Generation. Diese scheinen leicht von ihrer Mutterzelle abzufallen, da sie selten in größerer Zahl an einer Zelle der Bodensatzform zu finden sind. Sie sind ca. 5–7 μ groß und 3–4 μ breit. Ihre Gestalt bietet ein gutes Unterscheidungsmerkmal gegenüber den Oberhefen Rio und 25; sie sind größtenteils spitz-eiförmig oder keilförmig, doch ist auch die Birn- und Keulenform nicht selten. Auch wurstförmige Zellen von 8–9 μ Länge und 2–3 μ Breite kommen in kurzen Verbänden von drei bis vier Zellen vor. Ähnliche Formen besitzen die langgestreckten Zellen, welche im Verlauf der weiteren Hautentwicklung in großen Sproßverbänden auftreten. Im allgemeinen beträgt ihre Länge je nach der Form 10–15 μ , die Breite 4–6 μ . Sie stammen größtenteils von typischen Hautzellen 1. Generation ab und zeigen alle Eigenschaften, welche sie ebenfalls als solche charakterisieren, also zarte Membran, homogenes Plasma und reichen Glykogengehalt. Auch bei diesen Zellen zeigt sich die Neigung der Oberhefe 170, verhältnismäßig rasch zu vakuolisieren.

Im Hefering wie in der Haut der Hefe 170 beherrschen die Hautzellen 1. Generation, teils größere wurst- und birnförmige, teils kleinere spitz-eiförmige lange Zeit das Bild. Erst nach 2–3 Monaten werden

bei Zimmertemperatur typische Dauerzellen gebildet. Zwar sind bereits mit Beginn der Heferingbildung Zellen mit ziemlich starker Membran vorhanden, doch fehlen denselben die Oehlkörperchen, sowie das Glykogen. Das Plasma ist meistens durch große Vakuolen bis auf einen dünnen Schlauch an der Zellwand reduziert. In der Haut sind auch in späteren Stadien ihrer Entwicklung echte Dauerzellen nie besonders zahlreich vorhanden, häufiger sind sie dagegen in älteren Heferingen zu finden.

Die lang andauernde Vorherrschaft der Hautzellen 1. Generation in den mannigfachsten, teilweise recht absonderlichen Formen und das relativ späte Auftreten typischer Dauerzellen in der Haut bilden ein deutliches und charakteristisches Merkmal für die Differenzierung der Oberhefe 170 gegenüber den Hefen Rio und 25. In dieser Beziehung scheint also Oberhefe 170 dem untergärigen Hefestamm 7 näher zu stehen, als die diesem Stamm in vielen sonstigen Eigenschaften ähnliche Oberhefe 25.

Nach vorstehenden Beobachtungen lassen sich somit zwei deutlich getrennte Gruppen hinsichtlich der Hautbildung bei den drei obergärigen Bierhefen unterscheiden, deren eine die Oberhefen Rio und 25, deren andere die Oberhefe 170 bildet.

B.

Die im vorstehenden Teil bei den einzelnen Hefen beschriebenen Zellelemente der Kahmhäute herrschen in diesen während der ersten Wochen vor. Erst nach 4—5 Wochen treten in größerer Anzahl Zellen auf, welche durch ihre regelmäßige kugelförmige Gestalt, durch starke Membranverdickung und durch reichen Gehalt des Plasmas an starkglänzenden Tröpfchen besonders auffallen. Mit diesen Zellen tritt bei den obergärigen Bierhefen in gleicher Weise wie bei den untergärigen ein neues charakteristisches Element in der Entwicklung der Haut in Erscheinung; diese Zellen sind von Will¹⁾ als den Chlamydosporen analoge Bildungen aufgefaßt und als Dauerzellen bezeichnet worden. W. Henneberg²⁾ hat zwar bei den von ihm untersuchten obergärigen Hefen (Brennereihefen Rasse II und XII) mit den Dauerzellen der untergärigen Bierhefen völlig übereinstimmende Reservezellen bis jetzt nicht finden können, jedoch sind die von ihm erwähnten, in allen Heferingen und Häuten auf vergorenen Flüssigkeiten vorhandenen rundlichen Zellen mit dünnen Zellwänden und vielen Eiweißkörnern und Fetttröpfchen sehr wahrscheinlich als „Dauerzellen“ aufzufassen. Schon von Will ist darauf hingewiesen worden (l. c.), daß die von ihm als „Dauerzellen“ bezeichneten Zellelemente bei verschiedenen Hefen in verschiedener Weise abgestufte Ausbildung zeigen (vergl. Stamm 7 der von ihm untersuchten untergärigen Arten von Bierhefe). Funktionell kommen diese Zellen den Dauerzellen gleich, weichen jedoch in morphologischer Beziehung von diesen in verschiedener Hinsicht ab. Bei den drei obergärigen Bierhefen Rio, 25 und 170 erwiesen sich die als Dauerzellen

1) Will, H., Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe; Abschnitt IV: Die Dauerzellen. (Zeitschrift für das gesamte Brauwesen. 1895. p. 217 ff.)

2) Henneberg, W., Abnorme Zellformen bei Kulturhefen. (Wochenschrift für Brauerei. 1904. p. 563.)

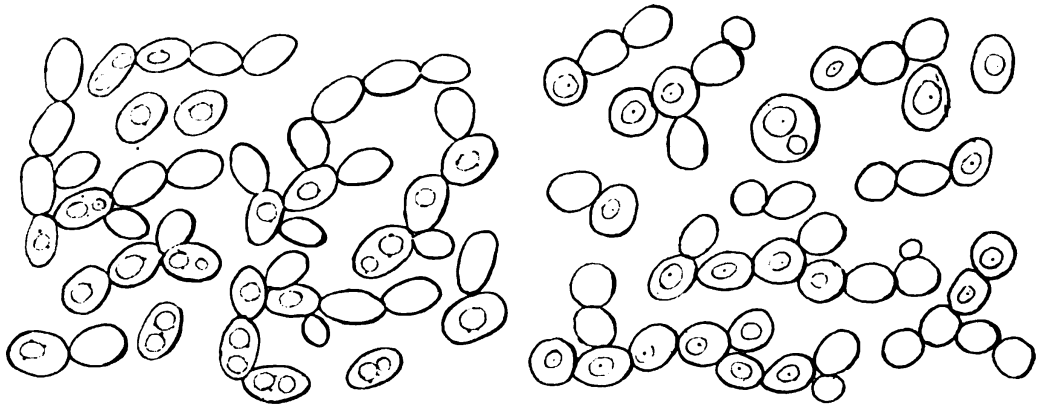


Fig. 1.

ca. $\frac{650}{1}$

Fig. 2.

Fig. 1. Zellen der Alkoholgärungsform der Oberhefe Rio in jungen Würzekulturen (20°).

Fig. 2. Zellen der Alkoholgärungsform der Oberhefe 25 in jungen Würzekulturen (20°).

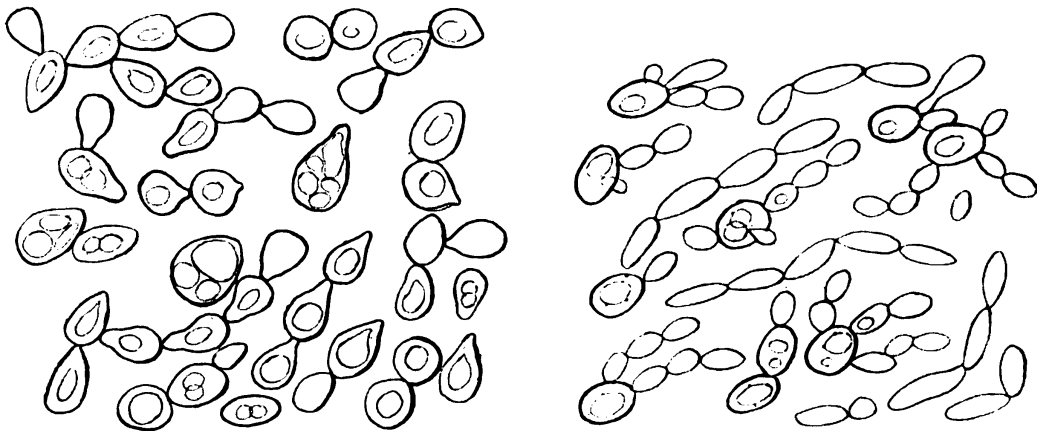


Fig. 3.

ca. $\frac{650}{1}$

Fig. 4.

Fig. 3. Zellen der Alkoholgärungsform der Oberhefe 170 in jungen Würzekulturen.

Fig. 4. Zellen der Oberhefe Rio aus einer jungen Kahlhaut bei 25°. Die kleinen gestreckt-ovalen und ovalen, ferner die wurstförmigen Zellen sind Hautzellen 1. Generation, welche aus den Zellen der Alkoholgärungsform hervorgehen.

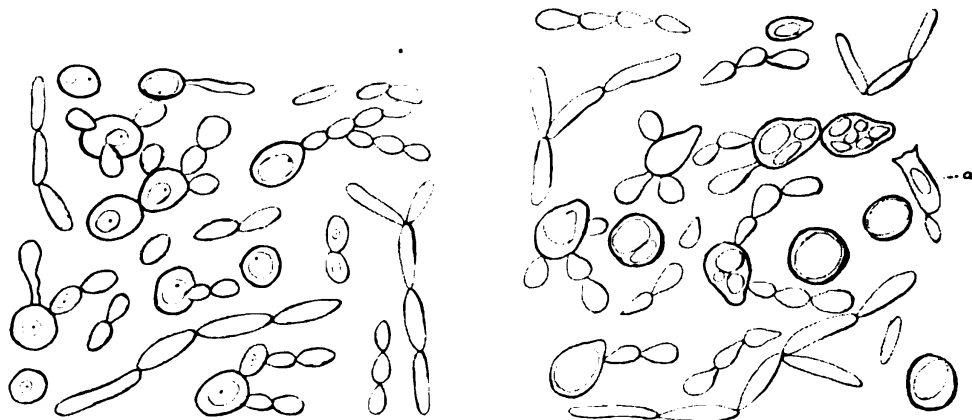


Fig. 5.

ca. $\frac{650}{1}$

Fig. 6.

Fig. 5. Zellen der Oberhefe 25 aus einer jungen Kahlhaut bei 25°; wie bei Fig. 4.

Fig. 6. Zellen der Oberhefe 170 aus einer jungen Kahlhaut bei 25°; wie bei Fig. 4.

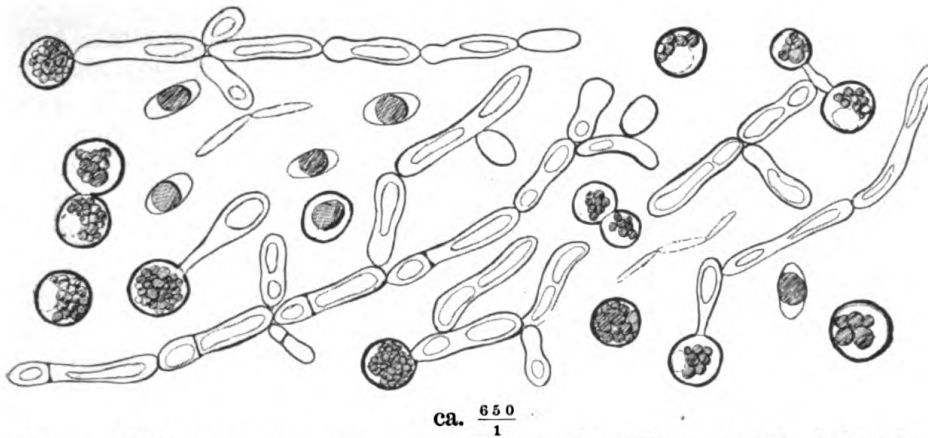


Fig. 7. Zellformen aus einer ca. 5 Monate alten Haut von Oberhefe Rio. (Die Zellen mit dicker Membran sind mit Oeltröpfchen erfüllte Dauerzellen.)

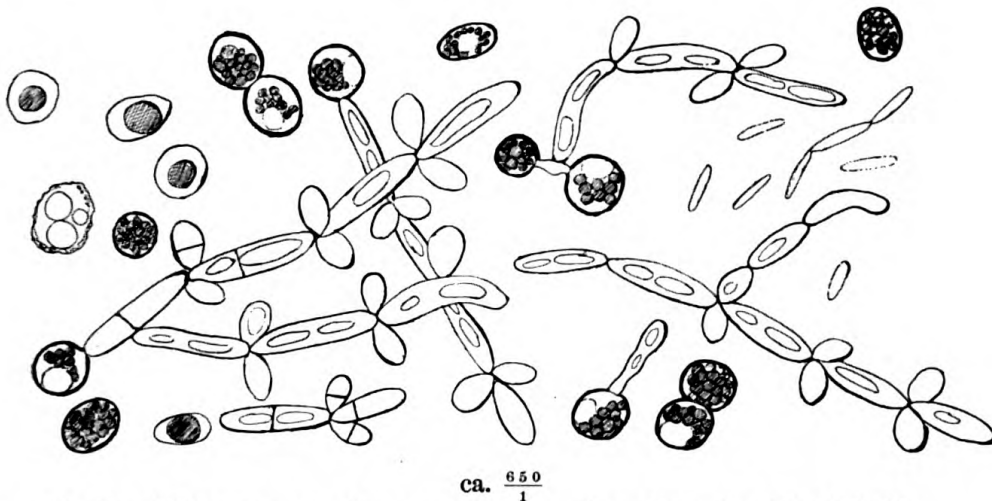


Fig. 8. Zellformen aus einer ca. 5 Monate alten Haut der Oberhefe 25.

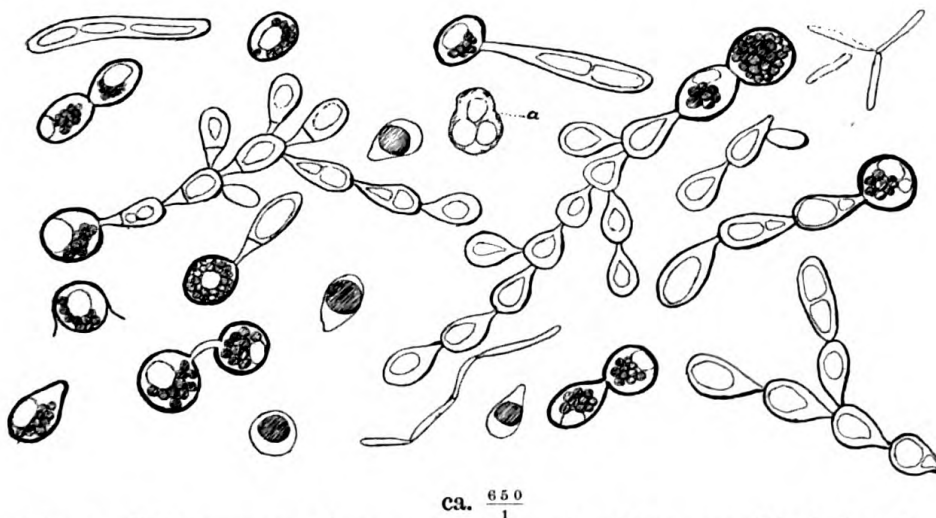


Fig. 9. Zellformen aus einer ca. 5 Monate alten Haut von Oberhefe 170. (Eine Dauerzelle mit teilweise abgelöster Hautschicht.)

Die Zeichnungen der Fig. 1—9 sind nach Skizzen entworfen, welche nach der Natur mit einem Zeiss'schen Zeichenprisma erhalten wurden.

angesprochenen Elemente der Haut bezw. des Heferinges den Dauerzellen der untergärigen Hefen vollständig gleichwertig, sowohl hinsichtlich ihres Vorkommens und ihrer morphologischen Eigenschaften als auch insbesondere hinsichtlich der Eigenart der Sprossung, die sie auch als Ausgangselemente für die 2. Generation der Hautzellen kennzeichnet. Dies soll im folgenden gleichzeitig für die drei untersuchten Oberhefen in Kürze nachgewiesen werden. Ferner sollen dann die Unterschiede zwischen den drei Hefen hinsichtlich der Entwicklung der Dauerzellen und der aus diesen entstehenden Zellformen dargelegt und endlich eine kurze Uebersicht über die hauptsächlichsten Abweichungen gegeben werden, welche die drei obergärigen Hefen bezüglich der Hautbildung unter sich und gegenüber den untergärigen Bierhefen erkennen lassen.

Was zunächst das Vorkommen der Dauerzellen betrifft, so ist zu konstatieren, daß sie sich bei allen drei untersuchten Oberhefen sowohl in der Haut als auch insbesondere im Hefering in reicher Anzahl finden. Es ist geradezu charakteristisch für die vorliegenden obergärigen Hefen, daß die Haut älterer Kulturen oft ausschließlich aus Dauerzellen besteht. Bereits nach 7 Wochen konnte dies bei Hefe Rio an Kulturen, welche bei Zimmertemperatur gestanden hatten, festgestellt werden, bei den beiden anderen Hefen 25 und 170 bestehen zu dieser Zeit die Häute noch größtenteils aus Hautzellen 1. Generation, und zwar sowohl aus den kleinen runden bezw. birnförmigen Zellen als auch aus langgestreckten Formen. Dauerzellen finden sich meist nur in beschränkter Anzahl, oft in Nestern beisammenliegend, und zwar bei Hefe 25 relativ häufiger als bei 170. Im Hefering dagegen sind bei allen drei Hefen typische Dauerzellen in großer Zahl anzutreffen. Hefe 170 macht insofern eine Ausnahme, als, wie bereits erwähnt, in den ersten Wochen rundliche Zellen mit verdickter Membran, aber mit großen Vakuolen und stark reduziertem Plasma ohne Oelkörperchen in der Haut vorkommen. In späteren Entwicklungsstadien treten aber auch bei Hefe 170 typische Dauerzellen auf. So ist in 3 Monate alten Kulturen die Haut bei Hefe 170 wie bei Hefe 25 relativ reich an echten Dauerzellen, wenn auch noch andere Zellformen in ziemlich großer Anzahl vorhanden sind.

Die bei den drei obergärigen Hefen besonders stark ausgeprägte Eigenschaft älterer Häute, leicht zu zerfallen und in Fetzen zu Boden zu sinken, mag wohl die Ursache sein, daß in sämtlichen über 3 Monate alten Kulturen die Haut nur relativ wenig Dauerzellen enthält. Besonders arm an Dauerzellen waren die Stellen der Haut, welche sich durch ihre mattgraue Farbe und durch das Auftreten zahlreicher Hautzellen 1. Generation als Neubildungen charakterisierten. Dies war sowohl bei 8 Monate alten Kulturen im Laboratorium als auch bei Kulturen, die über 1 Jahr bei Kellertemperatur (ca. 10°) gestanden hatten, zu konstatieren. Der Hefering dagegen, der besonders bei den Stämmen Rio und 170 bis zu einer Dicke von 3 mm angewachsen und infolge der Verdunstung der Bierwürze einige Millimeter von dieser entfernt war, bestand ausschließlich aus Dauerzellen. Hier möge noch darauf hingewiesen werden, daß bei der Festlegung der Sporenkurve für Hefe 170 wiederholt die Beobachtung gemacht werden konnte, daß in den Gipsblockkulturen dieser Hefe nach längerem Stehen Zellen mit verdickter Membran vorgefunden wurden, welche bezüglich ihres Gehaltes an Oelkörperchen den in Haut und

Hefering auftretenden Dauerzellen sehr ähnlich waren. Die gleiche Beobachtung wurde übrigens auch von Will¹⁾ angegeben.

Hinsichtlich ihrer morphologischen Eigenschaften unterscheiden sich die bei den drei obergärigen Hefen gefundenen Dauerzellen ebenfalls in nichts von den Dauerzellen der untergärigen Hefen. Die Zellen sind im allgemeinen 9—12 μ groß, meist rund, lediglich bei Hefe 170 kommen auch elliptische und birnförmige Dauerzellen vor. Die Membran ist wesentlich dicker als die der Bodensatzzellen, nicht selten bis zu 0,5 μ und auch etwas darüber. Eine Schichtung der Membran konnte bei den Dauerzellen in den Häuten bzw. Heferingen direkt nicht beobachtet werden; dagegen trennte sich oft bei Behandlung dieser Zellen mit konzentrierter Salzsäure eine äußere Schicht von der Zellhaut ab. Daß diese Ablösung einer äußeren Schicht auch spontan, ebenso wie bei den untergärigen Bierhefen, vorkommt, beweisen Beobachtungen, welche an Dauerzellen aus der Oberfläche einer Riesenkolonie der Hefe 170 gemacht wurden. Häufig sitzen zwei zusammenhängende Dauerzellen (Mutter- und Tochterzelle) einander anscheinend mit sehr breiter Basis auf. Die Membran ist an dieser Stelle im Gegensatz zu den übrigen Partien derselben sehr dünn. Auch nach der Trennung dieser Zellen tritt, soweit die Beobachtungen reichen, zunächst keine Verdickung dieser dünnen Stelle ein, so daß in der dicken Umhüllung der Dauerzellen gewissermaßen eine dünne Scheibe, die wohl in besonderem Maße zum Austausch der Nährstoffe geeignet erscheint, erhalten bleibt. Auch die Keimung der Dauerzellen mit sehr stark verdickter Membran beginnt an dieser Stelle.

Der Inhalt der Dauerzellen besteht auch bei den drei obergärigen Hefen aus einer mehr oder minder reichen Zahl von stark lichtbrechenden runden Oeltröpfchen²⁾, die bei den Hefen Rio und 25 oft den ganzen Zellraum ausfüllen, während bei Hefe 170 auch kleinere oder größere Vakuolen nicht selten sind. Diese Tröpfchen geben alle die für die Fettsubstanzen charakteristischen Reaktionen. Mit 1-proz. Ueberosmiumsäure färben sie sich braunschwarz, mit Alkannatinktur tritt jedoch erst dann Rotfärbung ein, wenn die Zellen durch Alkohol u. dergl. getötet sind. Ihre Löslichkeit in Alkohol, Aether, Chloroform und Schwefelkohlenstoff ist gering, solange sie sich innerhalb der Zellen befinden. Selbst Alkohol von 50—60° vermochte nach halbstündiger Einwirkung nur wenig von diesen Oeltröpfchen zu lösen; längere Behandlung mit warmer 10-proz. Kalilauge konnten sie jedoch nicht widerstehen. Die Widerstandsfähigkeit dieser Oeltröpfchen gegen obengenannte Lösungsmittel ist wesentlich geringer, wenn sie durch Druck auf das Deckglas aus den toten Dauerzellen befreit werden. Die Gegenwart einer hautartigen Hülle mit oder ohne diese durchsetzenden Maschen um die Oeltröpfchen, wie sie Will bei seinen untergärigen Hefen beobachtet hat, konnte bis jetzt bei den vorliegenden Hefen nicht beobachtet werden. Obwohl nun auch bei den Dauerzellen der obergärigen Hefen die für Eiweißsubstanzen charakteristischen Färbungen mit Jod und mit konzentrierter Salpetersäure und Ammoniak (Xanthoproteinreaktion) an den Oeltröpfchen außerhalb der Zelle auftreten und somit wenigstens auf die Wahrscheinlichkeit des Vorhandenseins einer eiweißartigen Hülle schließen lassen, so müssen

1) Will, H., Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. (Zeitschrift für das gesamte Brauwesen. 1894. p. 214. Anm.)

2) Siehe Abschnitt II (dies. Centralbl. No. 10/13. p. 298).

doch hierüber noch weitere systematische Untersuchungen vorgenommen werden. Vorläufig soll also die Bezeichnung „Oeltröpfchen“ beibehalten werden. Besonders charakteristisch ist das Verhalten dieser Oeltröpfchen gegen konzentrierte Schwefelsäure, das Will als besonderes Kennzeichen für die Oeltröpfchen der Dauerzellen und überhaupt der Hautzellen angibt. Bei Behandlung mit konzentrierter Schwefelsäure färben sie sich anfänglich hellgrün, diese Färbung wird mit der Länge der Einwirkung immer intensiver, so daß sie zuletzt von einem schönen Stahlgrün in ein dunkles Schwarzgrün übergeht. Es ist also auch das Auftreten dieser Oeltröpfchen und ihr Verhalten gegen verschiedene Reagentien ein weiterer Beweis für die Analogie der bei den obergärigen Hefen beobachteten Zellen mit den als Dauerzellen bei den untergärigen Hefen bezeichneten Zellformen.

Die Größe der Oeltröpfchen in den Dauerzellen war je nach der Zahl verschieden. In einer über 1 Jahr alten Gelatine-(Oberflächen-) Kultur bestand z. B. der Belag bei Oberhefe Rio fast vollständig aus echten Dauerzellen, die einen einzigen großen Oeltropfen von ca. 5 μ Durchmesser enthielten. Diese Zellen waren noch lebend und zeigten im hängenden Tropfen die für Dauerzellen charakteristischen Erscheinungen bei der Sprossung. Im übrigen war das Vorhandensein eines einzigen großen Oeltropfens meist ein Zeichen, daß die Zellen bereits abgestorben waren; bei diesen Oeltropfen ließen sich auch durch Druck auf das Deckglas die von Will¹⁾ beschriebenen kreuz- und sternförmigen Zerreißungsfiguren hervorbringen.

Bezüglich des Glykogengehaltes, der bei den Dauerzellen der untergärigen Hefen, ihrer Funktion als Reservezellen entsprechend, im allgemeinen ein ziemlich reicher ist, konnte bei den Dauerzellen der obergärigen Hefen nur in selteneren Fällen, so vor allem in Dauerzellen, die bei der Kultur auf festem Nährboden beobachtet wurden, eine deutliche Reaktion mit Jod erhalten werden. In der Regel färben sich die Dauerzellen der Haut und des Heferinges gelb bis gelbbraun auf Zusatz von Jod. Ob bei den Dauerzellen der obergärigen Hefen überhaupt kein Glykogen aufgespeichert wird, läßt sich noch nicht übersehen, dazu bedarf es noch weiterer Untersuchungen. Henneberg²⁾ hat glykogenhaltige Reservezellen bei Brennereihefen, Preßhefen und obergärigen Brauereihefen nicht beobachtet. Uebrigens hat auch schon Will³⁾ darauf hingewiesen, daß in Beziehung auf die Speicherung von Glykogen auch bei den Dauerzellen der untergärigen Hefen Ausnahmen vorkommen.

Als dritter Beweis für das Auftreten echter Dauerzellen bei den drei obergärigen Bierhefen ist die typische Art der Sprossung anzuführen. Die Dauerzellen der Oberhefen fungieren, wie bereits erwähnt, ebenso wie bei den untergärigen Hefen als Mutterzellen für ein weiteres charakteristisches Zellelement in der Entwicklung der Kahnhaut für Hautzellen 2. Generation. Nach Verlauf von 5—6 Monaten sind bei den drei obergärigen Hefen die Hautzellen 1. Generation fast völlig aus Haut und Hefering verschwunden, wenn man von den neugebildeten

1) Will, H., Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. (Zeitschrift für das gesamte Brauwesen. 1895. p. 289.)

2) Henneberg, W., Ueber das Vorkommen von Glykogen bei Brennereihefen, Preßhefen und obergärigen Brauereihefen. (Zeitschrift für Spiritusindustrie. 1902. p. 420.)

3) Will, H., Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. (Zeitschrift für das gesamte Brauwesen. 1895. p. 241. Anm. u. p. 298.)

Ersatzteilen für die zu Boden gesunkenen Fragmente der ursprünglichen Haut absieht. Dagegen haben sich aus einer kleineren oder größeren Zahl der vorhandenen Dauerzellen große, oft über das ganze Gesichtsfeld des Mikroskopes reichende Sproßverbände langgestreckter wurstförmiger Zellen von 15—20 μ und mehr Länge und 3—4 μ Breite entwickelt. Diese unterscheiden sich von den wurstförmigen Zellen der 1. Hautgeneration, abgesehen von den Größenverhältnissen, vor allem durch ihre ziemlich derbe Membran und durch ihr körniges Plasma, das reichlich mit kleinen Oeltröpfchen durchsetzt ist. Auch diese Oeltröpfchen zeigen die charakteristische Reaktion mit konzentrierter Schwefelsäure. Glykogenbildung konnte in den Hautzellen 2. Generation niemals beobachtet werden.

In einigen Sproßverbänden dieser Hautzellen konnte auch die Bildung von Querwänden, meist im unteren Drittel der Zelle, konstatiert werden. Es scheint diese Eigenschaft der Querwandbildung einzelnen Zellen eigentümlich und auf ihre Nachkommenschaft übertragbar zu sein, da sie sich nur in einzelnen Sproßverbänden, bei diesen jedoch fast in allen Zellen vorfand (p. 449). Eine besondere Form der Sprossung, welche von Will¹⁾ für seine vier untergärigen Hefen zum ersten Male beschrieben wurde, konnte auch bei den als Dauerzellen bei den drei obergärigen Hefen gedeuteten Zellen beobachtet werden. Bei Dauerzellen, welche einander mit breiter Basis aufsitzen, kann, wie schon bemerkt, nur an der dünnen Verbindungsstelle ein Auskeimen erfolgen. Bei isolierten, aber ursprünglich mit einer zweiten Zelle verbunden gewesenen Dauerzellen kann dies häufig beobachtet werden. Sind nun zwei Dauerzellen noch miteinander verbunden, so erfolgt das Auskeimen derart, daß an dieser dünnen Stelle der Membran eine kurze, schlauchförmige, zartwandige Zelle entsteht, welche sich zwischen den beiden Dauerzellen einschiebt und diese trennt. Es entsteht so eine Form, welche mit der einer Hantel eine gewisse Ähnlichkeit besitzt (p. 449, Fig. 9)²⁾. An dem so entstandenen Keimschlauch kann dann die ungehinderte Entwicklung von typischen Zellen der 2. Hautgeneration erfolgen. Allerdings ist diese Art der Sprossung bei den zahlreichen Kulturen der drei obergärigen Hefen, die zur Beobachtung kamen, nur in einigen wenigen Fällen konstatiert worden.

Aus allen diesen Beobachtungen ist der Schluß zu ziehen, daß wie bei den untergärigen, so auch bei den drei obergärigen Bierhefen typische Dauerzellen zur Ausbildung gelangen und ein sehr wichtiges Element in der Entwicklung der Haut darstellen.

Auffallende Unterschiede in der Form der Dauerzellen bestehen für die Hefen Rio und 25 nicht; bei Hefe 170 ist manchmal, wie schon erwähnt, die Gestalt der Dauerzellen nicht gleichmäßig rund, sondern auch birnförmig und elliptisch.

Auch hinsichtlich der Gestalt der Hautzellen 2. Generation stehen sich Hefe Rio und Hefe 25 sehr nahe. Die Zellen sind im allgemeinen 15—20 μ , oft aber auch bis zu 30 μ lang und 3—4 μ breit. Häufig sind diese Zellen bei Hefe Rio am oberen Ende etwas breiter als am unteren und gegen die Mitte zu etwas eingeschnürt. An dieser Stelle finden sich dann auch Querwände. Die äußeren Glieder der reichver-

1) Will, H., Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. (Zeitschrift für das gesamte Brauwesen. 1895. p. 314.)

2) Vergl. Zeitschrift für das gesamte Brauwesen. 1895. Tafel VI, Fig. 9.

zweigten Sproßverbände zeigen bisweilen etwas gekrümmte „bohnenähnliche“ Form. Nicht selten entstehen an den langgestreckten großen Zellen durch seitliche oder polare Sprossung kleine ovale Zellen von 6–7 μ Länge und ca. 4 μ Breite, mit derber Membran und dichtem, von zahlreichen kleinen Oeltröpfchen durchsetztem Plasma (p. 449, Fig 1). Die Hautzellen 2. Generation der Oberhefe 25 besitzen im allgemeinen ähnliche Formen und Größenverhältnisse wie bei Hefe Rio. Sie sind meist wurstförmig, doch kommt auch die oben erwähnte Bohnenform nicht selten vor. Auch kleinere ovale Zellen sind an den Sproßverbänden vorhanden; sie sprossen meist an den Polen der langgestreckten Zellen und zwar gleichmäßig auf beiden Seiten hervor und verleihen so den Sproßverbänden der Hautzellen 2. Generation der Hefe 25 eine gewisse Regelmäßigkeit, an der sie, wenigstens in vielen Fällen, nicht unschwer zu erkennen sind (p. 449, Fig. 2). Bei Oberhefe 170 bestehen die Sproßverbände der Hautzellen 2. Generation aus charakteristischen keulen- und birnförmigen, 12–15 μ langen Zellen, die oft prächtige, weitverzweigte Sproßverbände bilden. Wurstförmige Zellen sind relativ selten (p. 449, Fig. 3).

Auch hinsichtlich der zeitlichen Entwicklung der Hautzellen 2. Generation bilden die Oberhefen Rio und 25 eine Gruppe, ebenso wie bei der Entwicklung der Hautzellen 1. Generation. Bei Hefe 25 ist indessen die Neigung zur Entwicklung der ersteren geringer als bei Hefe Rio; Oberhefe 170 zeigt am wenigsten und spätesten die Eigenschaft, typische Zellen und Sproßverbände der Hautzellen 2. Generation zu bilden.

Nach 3 Monaten enthielt die gut entwickelte Haut einer bei Zimmertemperatur stehenden Kultur der Oberhefe Rio fast ausschließlich Dauerzellen, nur an einigen, durch ihre weißgraue Färbung als Neubildungen kenntlichen Stellen der Haut traten auch die Hautzellen der 1. Generation auf. Aus einzelnen dieser Dauerzellen waren bereits 15–25 μ lange, schlauchförmige Zellen hervorgesproßt, die auch nach der Derbheit der Membran und der Beschaffenheit des Plasmas als Hautzellen 2. Generation anzusprechen waren. Größere Sproßverbände solcher Zellen fanden sich jedoch noch nicht vor. Der kräftig entwickelte Hefering bestand fast ausschließlich aus Dauerzellen, jedoch waren namentlich an der Oberfläche des Ringes nicht selten große Sproßverbände von Hautzellen 2. Generation vorhanden.

Oberhefe 25 hatte nach 3 Monaten wohl eine kräftige Haut gebildet, der Hefering bestand jedoch nur aus einzelnen schwach entwickelten Fragmenten. Die Haut enthielt noch zahlreiche Zellen der 1. Hautgeneration; Dauerzellen waren häufig vorhanden und lagen meist in Nestern beisammen. Unzweifelhafte Hautzellen 2. Generation konnten nicht beobachtet werden, nur im Hefering, der im übrigen fast ganz aus Dauerzellen bestand, sproßten aus einigen derselben kurze Verbände wurstförmiger Zellen mit derber Membran oder einzelne schlauchförmige Zellen aus¹⁾.

Die Haut einer 3 Monate alten Kultur der Oberhefe 170, welche

1) Bei Hefe Rio und Hefe 25 konnten im Hefering von 3 Monate alten Kulturen einige zartwandigen, runde und gestreckte Zellen von der Größe der Bodensatzzellen beobachtet werden, welche zwei bis drei Sporen enthielten. Siehe auch H. Will, Vergleichende Untersuchungen etc. (Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. 1895. p. 265 und 1904. p. 607, Anm.).

unter den gleichen Bedingungen, wie die vorher erwähnten Kulturen der Hefen Rio und 25 gewachsen war, bestand im wesentlichen aus Zellen der 1. Hautgeneration, daneben auch aus den für Hefe 170 charakteristischen Zellen mit weniger verdickter Membran und reduziertem Plasma¹⁾ und endlich auch aus einigen typischen Dauerzellen. Der stark entwickelte Hefering bestand fast ausschließlich aus Dauerzellen, oft von deutlich elliptischer und birnförmiger Gestalt, Hautzellen 2. Generation waren jedoch nicht vorhanden. Auch in diesem Punkte stimmt also Oberhefe 170 mit der untergärigen Bierhefe, Stamm 7 von Will²⁾, überein.

Nach 5 Monaten hatte sich bei Hefe Rio und Hefe 25 das Bild noch wenig geändert. Nur war bei Stamm Rio die anfänglich sehr starke Haut schon vielfach zu Boden gesunken, ohne daß eine Ausfüllung der Lücken durch neugebildete Elemente stattgefunden hätte. Die Haut sowohl als ihre als helle Fetzen sich deutlich vom braunen ursprünglichen Bodensatz abhebenden zu Boden gesunkenen Fragmente bestehen größtenteils aus Dauerzellen, zwischen denen sich die oft sehr langen Sproßverbände der Hautzellen 2. Generation befinden. Der Hefering ist sehr stark und gleichmäßig entwickelt und hängt so fest in sich zusammen, daß beim Versuche, mit der Platinöse ein Präparat zu entnehmen, lange zusammenhängende Stücke abreißen. Er besteht aus echten Dauerzellen, die Außenseite ist jedoch — ebenso wie bei den untergärigen Hefen — mit einem dichten Flechtwerk von Sproßverbänden der Hautzellen 2. Generation überzogen.

Auch bei Oberhefe 25 war die Haut nach 5 Monaten teilweise zu Boden gesunken. Die Hautfragmente enthielten zahlreiche Dauerzellen, seltener auch Sproßverbände von Hautzellen 2. Generation. Der Ring war schwach entwickelt und bestand aus Dauerzellen, die vereinzelt zu typischen Zellen der 2. Hautgeneration ausgesproßt waren.

Oberhefe 170 zeigte nach 5 Monaten eine ziemlich stark entwickelte Haut, die aus typischen Dauerzellen und prächtigen Sproßverbänden birn- und keulenförmiger Zellen bestand. Im spärlich entwickelten Hefering waren ausschließlich Dauerzellen vorhanden.

Besonderes Interesse boten Kulturen, welche in doppelter Ausführung über 10 Monate bei Zimmertemperatur ohne jede Erschütterung gestanden hatten.

Die Kulturen der Hefe Rio enthielten keine Spur mehr von Hautbildung. Auf dem braunen ursprünglichen Bodensatz hoben sich die gelbweißen Fragmente der zu Boden gesunkenen Oberflächenhaut deutlich ab. Vom Bodensatz hatte sich, an der Wand des Erlenmeyer-Kölbchens aufsteigend, ein fast bis an den sehr stark entwickelten Hefering reichender Wandbelag gebildet. Der Ring bestand ausschließlich aus Dauerzellen; wurstförmige Hautzellen 2. Generation waren in diesen Kulturen im Ring selten. Die auf dem Bodensatz liegenden Hautfetzen waren aus Dauerzellen und einem eng verflochtenen Netzwerk reich entwickelter Sproßverbände von wurstförmigen Hautzellen 2. Generation gebildet. Im Wandbelag sind letztere nicht vorhanden, auch wenig typische Dauerzellen, dagegen viele Rundzellen, welche etwas kleiner

1) Siehe Hautbildung. A. p. 447.

2) Will, H., Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. (Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen, 1895. p. 44.)

sind als Dauerzellen und bei allen sonstigen Merkmalen derselben eine schwächere Membran besitzen. Daneben kommen glykogenhaltige, ovale Zellen der 1. Hautgeneration, oft in kurzen sproßverbänden vor und häufig wurst- und stabförmige dünne Zellen von ca. 7 μ Länge, welche homogenes, wenig lichtbrechendes Plasma und eine kaum sichtbare Membran besitzen. Aehnliche Zellen hat auch Henneberg¹⁾ beobachtet. Sie kommen übrigens auch in den auf alten Kulturen neu gebildeten Hautflecken vor; sehr wahrscheinlich handelt es sich auch im vorliegenden Fall um pathologische Erscheinungen.

Oberhefe 25 zeigte nach 10 Monaten nur noch einige teils braun-gelbe, teils gelbgraue Hautfragmente. Letztere sind durch das Auftreten von Hautzellen 1. Generation und von den oben erwähnten stabförmigen dünnen Zellen als Neubildungen zu erkennen. Die braungelben Flecke enthalten wieder typische Dauerzellen und große sproßverbände von Hautzellen 2. Generation. Der sehr schwach entwickelte Hefering enthält nur Dauerzellen, viele davon mit abgelöster Hautschicht und zusammengeflossenen Oeltröpfchen. Daneben sind vereinzelt Riesenzellen und schlauchförmige Zellen zu beobachten. Wandbelag ist nicht vorhanden.

Die Kulturen der Oberhefe 170 weisen nach 10 Monaten ebenfalls nur noch einzelne, teilweise neugebildete Hautfragmente auf. Diese sind oft von prächtigen sproßverbänden birnförmiger Hautzellen 2. Generation durchzogen. Aehnlich sind auch die hellen Hautfetzen über dem Bodensatz zusammengesetzt, doch sind auch noch viele Dauerzellen und stabähnliche dünne Zellen vorhanden. Der Hefering ist ungleichmäßig, bald stärker, bald schwächer ausgebildet und enthält viele, nicht selten tote Dauerzellen und eigenartig deformierte tote und in Auflösung begriffene Riesenzellen, deren Membran verzogen und gekräuselt erscheint (p. 449, Fig. 9a). Hautzellen 2. Generation sind nicht vorhanden.

Auch bei Kulturen, die über 1 Jahr aufbewahrt worden waren, sind diese Verhältnisse bei allen drei obergärigen Hefen so ziemlich gleich geblieben.

In sämtlichen älteren Kulturen war also die in den ersten Monaten gebildete starke Haut ohne besonderen äußeren Anlaß zu Boden gesunken. Bei der Oberhefe Rio war ein Ersatz durch Neubildungen nicht oder doch nur in sehr beschränktem Maße erfolgt. Dagegen war der Hefering durchweg sehr stark und gleichmäßig entwickelt und oft von einem Flechtwerk von sproßverbänden der 2. Hautgeneration überzogen. Dieses fast regelmäßige Fehlen einer Haut und die starke und gleichmäßige Ausbildung des Heferinges ließ ältere Kulturen der Hefe Rio deutlich von gleichaltrigen Kulturen der Hefen 25 und 170 unterscheiden. In Beziehung auf das Verhalten in älteren Hautkulturen steht also Oberhefe Rio dem untergärigen Bierhefestamm 93 von Will nahe. Oberhefe 25 nimmt gewissermaßen eine Mittelstellung zwischen den Hefen Rio und 170 ein. In älteren Hautkulturen ist sie vor allem durch die sehr spärliche Ausbildung des Heferinges und durch die schon erwähnte Regelmäßigkeit der sproßverbände der 2. Hautgeneration kenntlich. Oberhefe 170 endlich zeichnet sich durch eine ungleichmäßige Entwicklung des Heferinges, vor allem aber durch die späte Bildung typischer Dauerzellen und das Fehlen von Verbänden der langgestreckten

1) Henneberg, W., Abnorme Zellformen bei Kulturhefen. (Wochenschr. f. Brauerei. 1904. p. 566.)

Hautzellen 2. Generation an der Oberfläche des Heferinges aus. Hierdurch ist, wie schon erwähnt, Oberhefe 170 der untergärigen Bierhefe 7 von Will ähnlich.

Im großen und ganzen können bezüglich der Hautbildung Oberhefe Rio und Oberhefe 25 zu einer Gruppe vereinigt und der Oberhefe 170 gegenüber gestellt werden. Besonders charakteristische Unterschiede für Hefe 170 sind die späte Ausbildung der Dauerzellen, der geringe Umfang, in welchem Hautzellen 2. Generation, die auf der Oberfläche des Heferinges überhaupt fehlen, ausgebildet werden und auch die vorwiegend birn- und keulenförmige Gestalt der Hautzellen 2. Generation.

Ein fundamentaler Unterschied in der Entwicklung der Hautbildung zwischen obergärigen und untergärigen Bierhefen besteht nicht. Es treten alle diejenigen Zellelemente in zwei Hauptphasen im Entwicklungskreis der Kahmhäute auf, wie sie von Will für die untergärigen Hefen aufgestellt wurden, also die zartwandigen glykogenhaltigen Zellen der 1. Hautgeneration, die als Chlamydo-sporen aufzufassenden, reichlich mit Fett versehenen Dauerzellen und endlich die aus diesen stammenden langgestreckten Hautzellen 2. Generation. Als eine spezielle Eigenschaft der drei obergärigen Hefen, welche diese gegenüber den untergärigen Bierhefen kennzeichnet, kann also lediglich die intensivere und frühzeitigere Entwicklung der Kahmhaut, die sich jedoch aus den spezifischen Erscheinungen des Gärungsverlaufes bei den obergärigen Hefen erklärt, bezeichnet werden.

Nach den bisherigen Untersuchungen bilden größere Intensität und rascherer Verlauf sowohl bei der Gärung als auch bei der Sporen- und Hautbildung eines der hauptsächlichsten Kriterien für die Diagnostizierung einer obergärigen Bierhefe gegenüber einer untergärigen.

V. Wachstumsform auf festem Nährboden.

Für alle, welche sich eingehender mit den Wachstumserscheinungen der Saccharomyceten und anderer Sproßpilze auf festen Nährböden beschäftigt haben, unterliegt es keinem Zweifel mehr, daß von diesen recht wertvolle Merkmale für die Unterscheidung der einzelnen Arten und von Gruppen solcher abgeleitet werden können. Bei einer Beschreibung und vergleichenden Untersuchung von Hefen dürfen daher Angaben über die Wachstumsform in Einzell- wie in Riesenkolonien nicht mehr fehlen.

Will gelangte auf Grund seiner vergleichenden Untersuchungen an vier untergärigen Bierhefen zu dem Schluß, daß die Riesenkolonien auf festem und die Hautbildungen auf flüssigem Nährsubstrat gleichwertig, identisch sind. Es war daher von um so größerem Wert, die Riesenkolonien der vorliegenden drei obergärigen Bierhefen zu studieren, um feststellen zu können, ob auch hier die gleichen Beziehungen zwischen diesen Kolonien und den Hautbildungen wie bei den untergärigen Hefen bestehen. Ferner mußte auch untersucht werden, ob der anatomische Bau der Riesenkolonien die gleiche Gesetzmäßigkeit zeigt, wie sie Will für seine vier untergärigen Bierhefen nachgewiesen hat.

Bei einer je größeren Anzahl von Hefearten die Wachstumsform auf festen Nährböden, insbesondere diejenige der Riesenkolonien, mit den

übrigen, die Arten charakterisierenden Merkmalen bekannt werden, desto eher werden sich aber auch wohl allgemeinere Gesichtspunkte für eine weitere Bewertung derselben für die Charakterisierung der Hefen gewinnen lassen.

Die ausgedehntere Verwendung der Wachstumserscheinungen auf festen Nährböden zur Charakterisierung der *Saccharomyces*-Arten ist erst in neuerer Zeit mehr zur Würdigung gekommen. Hansen¹⁾ war der erste, welcher einige kurze Angaben über die Wachstumsform der Saccharomyceten und anderer Sproßpilze auf festen Nährböden gemacht hat. Später finden sich in der Literatur bei Beschreibungen von Hefen und anderer Sproßpilzarten ebenfalls vereinzelte, teilweise ziemlich unzulängliche Angaben über Wachstumserscheinungen auf festem Nährsubstrat. Größere Bedeutung erlangten die Wachstumserscheinungen der Hefen auf festen Nährböden erst durch die von Lindner²⁾ zuerst gezüchteten „Riesenkolonieen“, die aus einem auf ein festes Nährsubstrat aufgetragenen Tröpfchen Hefe sich entwickeln. Auch die Bedeutung der Riesenkolonieen für die Diagnose der Hefen hat Lindner voll gewürdigt. Später hat R. Aderhold³⁾ den Riesenkolonieen der von ihm untersuchten *Saccharomyces ellipsoideus*-Arten seine Aufmerksamkeit zugewendet und schon darauf hingewiesen, daß in vielen Punkten das Wachstum der Hefen in den Riesenkolonieen dem in den Häuten ähnlich ist. Erst die Untersuchungen von Will⁴⁾ ermöglichten aber einen genauen Einblick in die Gesetzmäßigkeit der Entwicklung der Kulturen auf festem Nährsubstrat und wiesen die Identität der im Verlaufe der Hautentwicklung auftretenden Zellgenerationen mit den in den aufeinanderfolgenden Entwicklungsstadien der Riesenkolonieen auftretenden Zellformen nach. Die Will'schen Arbeiten führten erst zu dem richtigen Verständnis der anscheinend so verwickelten und doch wiederum so einfachen und regelmäßig bei allen Hefen wiederkehrenden Vorgänge bei der Entwicklung der Hautbildung und der Riesenkolonieen.

Von den zahlreichen festen Nährböden, welche von den genannten Forschern in Anwendung gebracht wurden, erschien für den vorliegenden Zweck die reine, ohne alle chemischen Zusätze hergestellte Würzelgelatine als der geeignetste, da diese in allen zymotechnischen Laboratorien gebräuchlich und die gleichzeitige Herstellung einer größeren Menge leicht möglich ist. Gerade aber das Vorhandensein einer größeren Menge der gleichen Würzelgelatine ist für längere Zeit in Anspruch nehmende Versuche, wie die vorliegenden, von besonderem Wert, weil dadurch alle Komplikationen, die durch Aenderungen in der chemischen und physikalischen Beschaffenheit des festen Nährsubstrates nach den Untersuchungen Will's herbeigeführt werden können, wenn sonst geeignete Maßregeln getroffen werden, vermieden werden können. Daß solche Beein-

1) Hansen, E. Chr., Untersuchungen über die Physiologie und Morphologie der Alkoholfermente. (Zeitschrift f. d. gesamte Brauwesen. 1886. p. 297) und „Ueber Hefe und Hefereinzucht“. (Centralblatt f. Bakt. u. Parasitenk. Bd. II. 1887. p. 118.)

2) Lindner, P., Ueber die Erkennung der Heferassen und ihre photographische Darstellung. (Wochenschrift f. Brauerei. 1891. p. 815.) Das Wachstum der Hefen auf festen Nährböden. (Ibid. 1893. p. 692.)

3) Aderhold, R., Die Morphologie der deutschen *Saccharomyces ellipsoideus*-Arten. (Landwirtschaftliche Jahrbücher. Bd. XXIII. 1894. p. 615.)

4) Will, H., Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. (Zeitschrift f. d. gesamte Brauwesen. 1898. p. 443 ff.)

flussungen durch Veränderungen in der chemischen Zusammensetzung der Würze und der Konsistenz der Gelatine eintreten, wurde im Verlauf dieser Untersuchungen zu wiederholten Malen festgestellt.

Für die Hauptreihe der im folgenden dargelegten Untersuchungen wurde eine Würzegeatine gewählt, welche aus 10 Teilen reiner Gelatine auf 90 Teile ca. 14-proz. Braunbierwürze bestand und nach der Sterilisation im strömenden Wasserdampf noch etwa 2 Wochen unter Watterverschluss aufbewahrt wurde, ehe sie in Verwendung kam.

A.

Das Wachstum der Zellen der Alkoholgärungsform in Einzellkolonien.

Das Studium der Wachstumsform von Hefen auf festem Nährboden scheidet sich in zwei natürliche Teile, ins Studium der Entwicklung von Einzellkolonien und in das der Riesenzellkolonien. Bezüglich der Form, welche die aus einer einzigen isolierten Zelle entstandene Hefekolonie annehmen kann, hat Will drei „Typen“ aufgestellt. Als Typus I bezeichnet er solche Kolonien, welche eine regelmäßige Linsen-, Kugel-, Halbkugel- oder Zapfenform besitzen. Die Peripherie dieser regelmäßigen Kolonien zeigt nur diejenigen Unebenheiten, wie sie durch die Aneinanderlagerung der rundlichen und ovoidischen Hefezellen bedingt sind. Den Typus II bilden unregelmäßige Kolonien mit regelmäßigem Kern. Ueber den Rand des letzteren ragen größere oder kleinere sproßverbände hinaus, bald in geringerer Zahl aus einer Stelle der Peripherie des regelmäßigen Kernes hervorspringend, bald von mehreren Stellen derselben strahlenförmig ausgehend, bald einen Kranz langgestreckter sproßverbände um den dichteren Kern bildend¹⁾. Für den Fall, daß ein größeres Bündel von sproßverbänden die Peripherie des dichten Kernes an einer Stelle durchbricht, gebraucht Will den Vergleich mit einer „platzenden Bombe“, für den Fall, daß die sproßverbände an mehreren Stellen hervordringen, den Ausdruck „Polypenform“. Als Typus III wird die vollständig unregelmäßige Form der Kolonien bezeichnet, bei der schon von der Mutterzelle aus nach allen Seiten unregelmäßige sproßverbände ausstrahlen. Im Gegensatz zum 1. Wachstumstypus, bei dem die sproßverbände nicht erhalten bleiben, sind die einzelnen Glieder der sproßverbände bei Typus III in ziemlich festem Zusammenhang untereinander²⁾.

Da das Wachstum der Einzellkolonien nicht nur durch Verschiedenheiten des festen Nährsubstrates, sondern auch durch die Zusammensetzung der Nährlösung, in welcher sich die Zelle vor der Einsaat in dieses befand, die Temperatur, die Lüftung, die Dicke der Gelatineschicht und auch in gewisser Beziehung durch den Feuchtigkeitsgrad der Luft in den feuchten Kammern beeinflußt wird, mußten für die Beobachtung der Wachstumserscheinungen möglichst einheitliche Versuchsbedingungen gewählt werden. Zunächst wurden die drei obergärigen Hefen längere Zeit in der gleichen Braunbierwürze bei 25° gezüchtet, wobei sie alle 3—4 Tage in frische Würze übergeführt wurden.

1) Will, H., Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. (Zeitschrift f. d. gesamte Brauwesen. 1898. Taf. I. Fig. 2.)

2) Will, H., *ibid.* 1895. p. 3 und 1898. p. 446.

Einige Tage vor Anlage der Kulturen in den feuchten Kammern wurden die drei Hefen alle 24 Stunden überimpft, um ja das Aufkommen von Kahmhautzellen, deren Wachstumstypus in Einzellkolonien nach den Untersuchungen von Will meist verschieden von demjenigen der Bodensatzzellen der Alkoholgärungsform ist, hintanzuhalten. Von diesen Kulturen wurden dann in möglichst dünner Schicht von Würzegeleatine in der Böttcherschen feuchten Kammer eine Anzahl Zellen ausgesät und das Wachstum der markierten isolierten Zellen täglich beobachtet. Nach der Beobachtung wurde der Ring der feuchten Kammer vom Objektträger ca. $\frac{1}{2}$ Minute zur Lüftung abgehoben und event. der in der Kammer befindliche Wassertropfen erneuert. Infektion ist auf diese Art und Weise der Lüftung in keiner der beobachteten Einzellkulturen eingetreten.

Die Beobachtungen wurden bei Zimmertemperatur und zwar zu verschiedenen Zeiten, einmal im Winter in mäßig geheiztem Zimmer (circa $17-18^{\circ}$), das zweite Mal im Spätfrühling (Zimmerwärme $20-25^{\circ}$) ausgeführt. Zur Untersuchung kam im ersten Fall die 85., im zweiten Falle die 132. Ueberimpfung der drei Oberhefen. Unterschiede zwischen den Wachstumsformen der Einzellkolonien dieser beiden zeitlich verschiedenen Beobachtungsreihen konnten nicht konstatiert werden. Zur Beobachtung der Wachstumserscheinungen der Einzellkolonien wurden nur solche Zellen gewählt, deren äußerer Habitus sie als typische Bodensatzzellen der betreffenden Oberhefe charakterisierte.

Was nun die Wachstumsformen der unter vorstehenden Bedingungen gezüchteten Einzellkolonien betrifft, so konnten wesentliche Unterschiede zwischen den drei obergärigen Hefearten nicht konstatiert werden. Hefe Rio und Hefe 170 besitzen beide vollständig unregelmäßige Kolonien (Typus III), die auch nach längerer Beobachtungsdauer nur in wenigen Fällen — bei Hefe 170 vielleicht etwas häufiger — sich dem Wachstumstypus II („Polypenform“) etwas nähern. Oberhefe 25 dagegen wächst in den meisten Fällen nach dem Wachstumstypus II. Es lagert sich bei dieser Hefe meist dem regelmäßigen runden Kern ein heller Kranz langer sproßverbände an, deren einzelne Zellglieder in engem Zusammenhange bleiben, während die Zellen des dichten Kernes bald ohne Verbindung nebeneinander lagern. Völlig unregelmäßige Kolonien kommen bei Hefe 25 nur in seltenen Fällen vor.

Der vollständig regelmäßige, auch als „Maulbeerform“ bezeichnete Typus I wurde bei keiner der zahlreichen beobachteten Einzellkolonien der drei obergärigen Bierhefen konstatiert. Da die überwiegende Mehrzahl der untergärigen Bierhefen — von den vier Hefestämmen der Willschen Arbeiten machten nur die Stämme 6 und 7 eine Ausnahme — bei Aussaat von Zellen der Alkoholgärungsform in den Einzellkolonien den Wachstumstypus I aufweist, so scheint die Beobachtung der Wachstumserscheinungen in Einzellkolonien im Verein mit anderen ein Merkmal zu sein für die Charakterisierung einer obergärigen Bierhefe.

Die Form der Zellen war auch in der Kultur auf festem Nährboden im allgemeinen die für die betreffende Hefe in Nährflüssigkeiten charakteristische, so daß also bei Hefe Rio kurz-elliptische, bei Hefe 25 runde und ovale und bei Hefe 170 ovoidische und birnförmige Zellen vorherrschen. Die Membran der Zellen hatte bei allen drei Hefen nach einiger Zeit eine gewisse Verdickung erfahren, das Plasma der Zellen war schaumig geworden und besaß auch einige stark glänzende Granula.

Als Dauerzellen waren diese Zellen nicht aufzufassen. Eine Kultur der Hefe 170, welche längere Zeit höherer Temperatur ausgesetzt und deren Gelatine infolgedessen etwas weicher geworden war, enthielt nach zirka 14 Tagen eine große Anzahl sporenführender Zellen; besonders die Erscheinung der „Scheidewandbildung“ (stark aufgequollene Sporen) war sehr häufig.

Nach 8—10 Tagen machten sich bei sämtlichen drei Hefen einzelne Nester von kleineren Zellen bemerkbar, welche sich von den inzwischen stark vakuolisierten und granulierten Zellen der ersten Tage durch ihre dünnere Membran und ihr homogenes Plasma unterschieden. Besonders an den Ausläufern konnten diese kleinen Zellen beobachtet werden. Es wiederholen sich also hier die gleichen Erscheinungen, welche Will an den „auswachsenden“ Einzellkolonien der untergärigen Hefen beobachtet hat und auf welche er unter anderem auch die Identität der Einzell- wie Riesenzellen mit den Hautbildungen gründet. Es handelt sich also jedenfalls um die Entwicklung der Hautzellen 1. Generation.

Typische Dauerzellen wurden in den Kolonien direkt nicht beobachtet, dagegen konnte hier und da das Auftreten derselben in Proben konstatiert werden, welche zur mikroskopischen Untersuchung den Gelatine- kulturen entnommen waren. Gleichzeitig mit dem Auftreten von Dauerzellen wurde aber auch die Entstehung sehr langer sproßverbände von gestreckten Zellen beobachtet, welche nach ihrem ganzen Aussehen den Hautzellen 2. Generation gleichen. Die Zellen dieser sproßverbände hatten im allgemeinen die der betreffenden Hefe eigentümliche Form, bei Hefe 170 kamen besonders schöne sproßverbände birnförmiger Zellen wie in den Hautbildungen vor. Doch wurden diese sproßverbände erst nach ca. 2 Monaten beobachtet und auch nur bei einzelnen Kolonien. Die „ausgewachsenen“ Kolonien der drei obergärigen Hefen zeigen also die gleichen Veränderungen wie diejenigen der untergärigen Arten, und diese Veränderungen vollziehen sich wie dort in zwei Phasen, welche durch besondere Zellformen charakterisiert sind. Bei den übrigen Kolonien der drei Hefen waren im vorgeschrittenen Alter die strahlenförmigen Ausläufer vornehmlich aus Zellen gebildet, welche verdickte Membran und körniges Plasma besitzen, ohne jedoch den echten Dauerzellen völlig zu gleichen. Es findet also die bei den drei obergärigen Bierhefen gelegentlich der Hautbildung gemachte Beobachtung, daß dieselbe im allgemeinen wenig zur Entwicklung von sproßverbänden der langgestreckten Hautzellen 2. Generation neigen, auch durch die bei der Entwicklung der Einzellkolonien gemachten Erfahrungen ihre Bestätigung.

Unterschiede zwischen den drei vorliegenden obergärigen Bierhefen konnten aus den Beobachtungen über die späteren Erscheinungen an den Einzellkolonien nicht abgeleitet werden.

B.

Die Wachstumsform der Riesenzellen bei Aussaat von Zellen der Alkoholgärungsform.

Zur eingehenden Charakterisierung einer Hefeart ist unter allen Umständen das Studium ihrer Wachstumsform auf festem Nährboden im großen, die von P. Lindner als „Riesenzelle“ bezeichnet wurde, nötig. Diese Erscheinungsform ist deshalb von so großem Wert für die Diagnose der Hefearten, weil bei einigermaßen gleichen Versuchsbe-

dingungen die an den Riesenkolonien zum Ausdruck kommenden Eigentümlichkeiten der einzelnen Hefen im großen und ganzen sich unverändert forterhalten und weil uns auch die leicht mögliche photographische Reproduktion der Riesenkolonien die oft sehr charakteristischen Wachstumsformen dann noch vor Augen führen kann, wenn die Kolonien selbst schon lange zerstört sind. Zu diesen Vorteilen für die Diagnose der Hefearten kommt aber noch das Interesse, welches die Riesenkolonie für das Verständnis der verschiedenen Erscheinungsformen der Hefezellen selbst bietet.

Als Nährsubstrat für die Anlage der Riesenkolonien wurde aus vorher¹⁾ bezeichneten Gründen 10-proz. Würzgelatine gewählt. Die Würzekulturen der drei obergärigen Hefen wurden zunächst durch einige Male wiederholtes Ueberimpfen aufgefrischt; bei der mikroskopischen Untersuchung waren nur kräftig sprossende Zellen der Alkoholgärungsform zu beobachten. Zum Zwecke der besseren vergleichenden Darstellung wurde von den drei Hefen je ein Tröpfchen des Bodensatzes in ein und denselben Erlenmeyer-Kolben gebracht, der eine ca. 2 cm hohe Gelatineschicht enthielt. Es wurde also im allgemeinen nach der übrigens auch von Will²⁾ bei seinen Untersuchungen befolgten Vorschrift Lindners³⁾ gearbeitet. Ein Teil der Kolonien war auch in Glasdosen, wie sie für die Herstellung von Sporenkulturen gebräuchlich sind, angelegt worden. So günstig sich dies auch für die photographische Darstellung erwies, so mußte doch infolge der großen Infektionsgefahr, die oft gerade die schönsten Kolonien zerstörte, bald davon wieder abgesehen werden. Von den zahlreichen angelegten Riesenkolonien wurde ein Teil bei Zimmertemperatur (17—20°), ein Teil bei Kellertemperatur (10—12°) gezüchtet, um den Einfluß der Temperatur auf die Entwicklung der Riesenkolonien einigermaßen zu studieren. Es zeigte sich aber bei höherer Temperatur schon nach wenigen Tagen ein Hindernis für die ruhige Ausgestaltung typischer Riesenkolonien, das auch von Lindner⁴⁾ gerade bezüglich obergäriger Kulturhefen erwähnt wird, nämlich die lästige Auftreibung der Kolonien durch Kohlensäureblasen. Aus diesem Grunde wurden im späteren Verlauf der Untersuchungen sämtliche Kolonien nach ca. 8 Tagen nur bei Kellertemperatur weitergezüchtet.

Bezüglich der Entwicklung der jungen Riesenkolonien machte sich in den ersten 24 Stunden kein Unterschied zwischen den drei obergärigen Bierhefen bemerkbar. Die Riesenkolonien stellen runde bis ovale, grauweiße, gleichförmige Beläge dar, welche je nach der Größe des ausgesäten Hefetropfens 4—8 mm Durchmesser besitzen. Schon nach 24 Stunden macht sich indessen bei allen drei Hefen eine Einsenkung der zentralen Partie bemerkbar, so daß die Kolonien infolgedessen das Aussehen von flachen Schalen erhalten. Der Rand der Kolonien ist abgerundet und regelmäßig, nur in einem Falle konnte ein kleiner Riß in der Kolonie bemerkt werden, der offenbar durch die Spannung der trocken werdenden Hefemasse erzeugt worden war.

Die Riesenkolonien der drei Hefen boten schon nach 24 Stunden ein wesentlich anderes Bild bezüglich Form und Größe der sie zusammen-

1) Siehe Abschnitt V. p. 459.

2) Will, H., Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. (Zeitschrift für das gesamte Brauwesen. 1902. p. 144.)

3) Lindner, P., Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben. Berlin. 1901. p. 178.

4) Lindner, P., *ibid.* p. 179.

setzenden Zellen, als man nach der ausgesäten Bodensatzhefe hätte erwarten sollen. Stamm Rio enthielt in der Hauptsache noch viele Bodensatzzellen, deren Inhalt meist durch eine große Vakuole ziemlich reduziert war. Am Rande der Kolonie und auch an der Unterseite fanden sich gestreckt-ovale Zellen mit homogenem Plasma, ihr Längsdurchmesser ist etwa 12–14 μ bei einem Querdurchmesser von 3–4 μ . Daneben finden sich in ziemlicher Anzahl kleinere elliptische Zellen von 5–7 μ Längsdurchmesser, welche ebenfalls zarte Membran und homogenes Plasma besitzen. Bei der Oberhefe 170 sind diese Verhältnisse nicht wesentlich verschieden, nur zeigt sich oft die für 170 charakteristische Birn- und Keulenform. Oberhefe 25 zeigt dagegen insofern Abweichungen in der Art der Zusammensetzung, als wurstförmige Zellen noch nicht zur Ausbildung gelangt sind. Es herrschen neben den stark vakuolisierten Zellen der Aussaat vor allem kleinere 5–6 μ große ovale Zellen vor, welche homogenes Plasma und zarte Zellwände besitzen. Es liegt also bei Oberhefe 25 eine gewisse Aehnlichkeit mit dem untergärigen Stamm 7 vor, dessen Riesenkolonien auf Würzegeatine ebenfalls nach 24 Stunden noch keine wurstförmigen Zellen besitzen. Im übrigen ist bemerkenswert, daß die in den Vakuolen der Bodensatzzellen von Oberhefe 25 bei Würzekulturen oft beobachteten Körnchen in den Riesenkolonien selten sind und mit zunehmendem Alter derselben ganz verschwinden.

Nach 48 Stunden war die Höhe des Hefebelages der Riesenkolonien bei den drei obergärigen Hefen etwa auf 1 mm gewachsen. Die schalenartige Einsenkung in der Mitte der Kolonien hat sich etwas vertieft, auch die Gelatine um die Peripherie der Kolonien ist schwach eingesenkt. Bei sämtlichen drei Hefen wird der Rand mehr oder weniger aufgewulstet und wallartig. Hefe 25 und Hefe 170 unterscheiden sich äußerlich noch wenig. Dagegen hat sich bei Hefe Rio bereits eine neue charakteristische Erscheinung in der Entwicklung der Riesenkolonien bemerkbar gemacht (Tafel I, Fig. 1).

Schon bei der Betrachtung der Riesenkolonien der Hefen 25 und 170 fällt es auf, daß die äußere Begrenzung nicht mehr den regelmäßigen Verlauf nimmt, sondern bereits einige ausspringende Punkte an derselben vorhanden sind. Es sind dies die ersten Anlagen für die von Will als „Ströme“ bezeichneten Anhänge der Unterseite der Riesenkolonien, welche nach der Oberfläche der Gelatine hinwachsen und deren Auftreten den Riesenkolonien erst das charakteristische Gepräge verleiht. Bei der Oberhefe Rio sind diese Ströme schon ziemlich deutlich ausgeprägt und von der zentralen Partie und dem Walle der jungen Riesenkolonie scharf geschieden. Auffällig hierbei ist die einseitige Ausbildung der Ströme, die übrigens bei der Oberhefe Rio öfters wiederkehrt (siehe auch Stamm Rio auf Tafel II, Fig. 1). Es scheint diese Neigung zur einseitigen Anlage scharf ausgeprägter Ströme eine besondere Eigenschaft dieser Hefe zu sein.

Wurden die Kolonien in diesem Entwicklungsstadium mit weicher Gelatine überschichtet, einige Zeit in Eis gestellt und dann nach dem Erstarren sorgfältige Schnitte durch die Kulturen ausgeführt, so zeigten sich bereits am Rande der Kolonien, vor allem bei Hefe Rio mit ihren relativ stark ausgeprägten Strömen, auf der Unterseite der Kolonien Andeutungen von warzenähnlichen Anhängen, die ersten Anlagen der später so stark entwickelten „Rhizoiden“.

Die mikroskopische Untersuchung bot in diesem Stadium der Ent-

wicklung im allgemeinen das gleiche Bild bei sämtlichen drei Hefen. Die zentrale Partie der Riesenkolonien des Stammes Rio besteht aus den Zellen der Einsaat, welche die für Rio normalen elliptischen und ovalen Formen besitzen. Die Membran dieser Zellen hat unterdessen eine ziemliche Verdickung erfahren, das Plasma ist durch große Vakuolen bis auf eine dünne Wandschicht reduziert. Zwischen diesen und an diesen Zellen finden sich kleine runde und elliptische Zellen (ca. 6—7 : 4 μ) mit homogenem Plasma und zarter Membran. Die wallartige Randpartie weist jedoch immer mehr wurstförmige zarte Zellen auf (14—16 : 4—5 μ), die in den Strömen vorherrschend sind. Lange, fest zusammenhaltende Sproßverbände sind indessen selten. Die zentrale Partie der Unterseite besteht größtenteils aus Zellen der Bodensatzform. Bei den Riesenkolonien der Hefe 25 besteht die zentrale Partie (die ich der Kürze halber als „Teller“ bezeichnen möchte) ebenfalls nur aus den Zellen der Aussaat, zwischen diesen befinden sich in großer Anzahl kleinere ovale Zellen mit homogenem Plasma und zarter Membran. In der Randpartie zeigen sich indessen jetzt auch bei Hefe 25 langgestreckte, oft gekrümmte Zellen mit zarter Membran und homogenem Zellinhalt. Auf der Mitte der Unterseite finden sich Bodensatzzellen neben kleinen ovalen Zellen. Oberhefe 170 zeigt in 48 Stunden alten Riesenkolonien im „Teller“ Bodensatzzellen, deren Membran etwas verdickt und deren Plasma durch große Vakuolen stark reduziert ist¹⁾. Daneben finden sich zahlreiche zartwandige Zellen mit homogenem Plasma (Größe 6—7 μ), die spitzovale bis birnförmige Gestalt besitzen. Der Wall mit den Andeutungen der Ströme besteht fast ausschließlich aus gestreckt-ovalen bis wurstförmigen zarten Zellen, ebenso die Randpartie der Unterseite, während deren Mitte meist aus Bodensatzzellen mit reduziertem Inhalt gebildet ist.

Die Zusammensetzung der Riesenkolonien der drei obergärigen Bierhefen ist also nach 48 Stunden die gleiche; es bestehen höchstens graduelle Unterschiede zwischen denselben. In der Entwicklung der Kolonien war aber Hefe Rio den beiden anderen Hefen ziemlich weit voraus; auch gegenüber den vier untergärigen Hefen von Will, besonders gegenüber den Stämmen 93 und 7 zeigen die drei Oberhefen entsprechend ihrem schnelleren Wachstum in flüssigem Nährsubstrat einen gewissen Vorsprung in der Entwicklung der Riesenkolonien.

Was die Natur der bei allen drei Hefen beobachteten kleineren Hefenzellen betrifft, so sind sie nach ihrer Form, ihrem Aussehen, der Homogenität des Plasmas und der Zartheit der Membran den Kahlhautzellen 1. Generation sehr ähnlich. Dazu kommt noch der verhältnismäßig große Reichtum dieser Zellen an Glykogen und insbesondere ihre Abstammung. Gerade in den 48 Stunden alten Riesenkolonien war oft die Erscheinung zu beobachten, daß eine größere Anzahl dieser kleinen Zellen, oft 5—6, rings an einer Mutterzelle vom Typus der Bodensatz-

1) In diesen Präparaten konnte das von Hansen*) und Will**) beschriebene „gelatinöse Netzwerk“ zwischen den Bodensatzzellen in besonders schöner und deutlicher Ausbildung beobachtet werden.

*) Hansen, E. Chr., Vorläufige Mitteilung über Gärungspilze. (Botanisches Centralblatt. Bd. XXI. 1885. No. 6. p. 181.)

**) Will, H., Ueber einen ungeformten Eiweißkörper, welcher der untergärigen Bierhefe beigemischt ist und dessen Beziehungen zu dem sogenannten gelatinösen Netzwerk etc. (Zeitschrift für das gesamte Brauwesen. 1897. p. 447 ff.)

zellen aussproßte. Auch bei den untergärigen Hefen konnte Will¹⁾ diese Art der Sprossung („Kronenbildung“) in jungen Riesenkolonien nicht selten konstatieren. Ebenso tritt die von Will beschriebene Erscheinung der „Sterigmenbildung“ an den Mutterzellen auch bei den obergärigen Hefen oft auf, indem an den Stellen, an welchen kleine Tochterzellen aussproßten, die Mutterzellen ein scharf hervortretendes Spitzchen (Sterigma) zeigten (p. 448, Fig. 6a). Auch die in der Randzone der Riesenkolonien auftretenden langgestreckten Formen gleichen nach allen Merkmalen (zarte Membran, homogenes Plasma, Abstammung von Bodensatzzellen oder kleinen rundlichen, den entsprechenden Hautzellen 1. Generation bei den untergärigen Hefen ähnlichen Zellen) den im allgemeinen nach 2—3 Wochen bei mittlerer Temperatur in den Häuten der drei obergärigen Hefen auftretenden wurstförmigen, gestreckten Zellen, welche ja gerade bei den Oberhefen besonders reichlich vorkommen.

Es zeigen also auch die jungen Riesenkolonien der drei obergärigen Bierhefen im Verlaufe der Entwicklung analoge Zellformen wie in jungen Hautbildungen, ebenso wie dies Will für seine untergärigen Bierhefen gezeigt hat. Im Gegensatz zu der regellosen Lagerung der Zellen in den Häuten sind aber in der Riesenkolonie diese verschiedenen Zellformen regelmäßig angeordnet, indem Zellen der Aussaat und kleine rundliche bis ovale Zellen die Mitte der Riesenkolonie einnehmen, während deren Rand (der Wall und die Ströme) aus langgestreckten Zellen besteht.

Nach 3 Tagen zeigen die Riesenkolonien weitere Fortschritte in der Entwicklung der Randpartie, doch sind dieselben bei den Oberhefen 25 und 170 nicht besonders auffallend. Bei der Oberhefe Rio macht sich eine immer reicher werdende Gliederung des Randes bemerkbar, doch sind auch hier die Dimensionen der Ströme bei normal wachsenden Riesenkolonien gegenüber dem tief eingesenkten zentralen Teil noch ziemlich klein. In Beziehung auf die vorhandenen Zellformen und ihre Anordnung in den Riesenkolonien ist keine weitere Aenderung eingetreten.

Am 5. Tage treten die Unterschiede, welche sich zwischen Oberhefe Rio und 170 einerseits und Oberhefe 25 andererseits ergaben, schon sehr deutlich hervor. Die Ströme in der ca. 3 mm breiten Randpartie sind bei den beiden ersteren Hefen schon etwas gelappt, während die letztere einfache Ströme besitzt. Auch macht sich — besonders bei Hefe Rio — bereits eine Art Zonenbildung, gekennzeichnet durch konzentrische Streifung, bemerkbar. Radiale Streifung ist bei allen drei Hefen — wiederum besonders gut bei Hefe Rio — zu beobachten. Einen sehr hervortretenden Unterschied bildet auch das Verhältnis der zentralen Partie, des Tellers, zu den Strömen. Bei der Oberhefe 25 ist der Teller gegenüber den Strömen relativ wenig eingesenkt, das Hervorquellen der Ströme aus den an der Unterseite der Kultur befindlichen warzigen Anhängen ist sehr deutlich sichtbar. Die Oberfläche des Tellers ist glatt. Es sind dies Unterschiede, welche bei einer größeren Anzahl von Riesenkolonien der Hefe 25 beobachtet wurden, so daß sie wohl nicht als zufällige Erscheinungen, sondern als eine bestimmte Eigenschaft der Hefe 25 zu betrachten sind. Bei den Oberhefen Rio und 170

1) Will, H., Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. (Zeitschrift f. d. ges. Brauwesen. 1902. p. 246.)

ist dagegen der Teller ziemlich stark eingesenkt, die Oberfläche ist mit kleinen Warzen besetzt. Oberhefe 170 zeichnet sich bereits durch besondere Breite des Walles aus, der den Teller von den Strömen trennt. Die Unterseite der Kolonien zeigt höckerige Auswüchse von ca. 0,5 mm Länge, welche besonders bei Oberhefe Rio eine ziemliche Ausdehnung besitzen.

Bei der mikroskopischen Untersuchung, die auch an senkrechten Schnitten durch längere Zeit zum Härten auf Eis gestellte Kolonien vorgenommen wurde, ergab sich folgendes:

Die Oberfläche des zentralen Teiles der Riesenkolonien bestand zum größten Teil aus runden bis ovalen Zellen der Bodensatzform, deren Membran stark verdickt war. Gegen den Rand des Tellers traten dieselben etwas weniger hervor, indem hier die kleinen Zellen der 1. Hautgeneration mehr in den Vordergrund traten. Der äußere Teil des Walles sowie die Ströme sind oberflächlich von gestreckt ovalen Zellen gebildet, die Mitte der Riesenkolonien nehmen fast ausschließlich lange wurstförmige, bisweilen auch bohnenförmig gekrümmte Zellen ein. Die kleinen Warzen, welche sich im Teller der Kolonien von Rio und 170 finden, bestehen bei beiden Hefen aus kleineren runden Zellen, deren Membran verdickt und deren Plasma sehr körnig ist, jedoch keine größeren Oeltröpfchen enthält. Bei den Riesenkolonien der Oberhefe Rio zeigen sich schon am 5. Tage zwischen den gestreckt ovalen und wurstförmigen Zellen der Oberfläche der Randpartie und der Ströme größere runde Zellen (9–11 μ) mit verdickter Membran und stark lichtbrechenden Tröpfchen im Plasma; diese Oeltröpfchen geben mit konzentrierter Schwefelsäure die charakteristische Grünfärbung, was darauf hindeutet, daß diese Zellen wohl den Dauerzellen ziemlich nahe stehen. Die Riesenkolonien der Oberhefe 25 und 170 besitzen in diesem Entwicklungsstadium wohl ebenfalls an der Oberfläche der Randpartie und der Ströme Zellen mit verdickter Membran, die jedoch keine Oeltröpfchen im Plasma enthalten. Diese frühzeitige Ausbildung von Zellen, welche mit den Dauerzellen der Hautbildungen große Ähnlichkeit besitzen, ist eine auch schon beim Studium der Kahlhautentwicklung beobachtete, spezielle Eigenschaft der Oberhefe Rio, welche sie gegenüber den beiden anderen Hefen auszeichnet.

Gleichzeitig mit den vorher geschilderten Kolonien waren Parallelversuche angestellt worden, um den Einfluß der Temperatur und den der Beschaffenheit der Würzelgelatine festzustellen. Zu diesem Zweck wurden die Kolonien bei 10–12° auf 10-proz. und auf 16-proz. Würzelgelatine gezüchtet. Wie zu erwarten war, hatte die Erniedrigung der Temperatur von ca. 20° auf 10–12° eine beträchtliche Verzögerung im Wachstum zur Folge. Nach 4 Tagen hatten die Kolonien (Taf. I, Fig. 2) fast das gleiche Aussehen wie bei höherer Temperatur etwa 2 Tage alte Kolonien. Bei den Oberhefen 25 und 170 ist die zentrale Partie wenig eingewölbt, die ganze Kolonie ziemlich stark und nicht in die Gelatine eingesenkt, Andeutungen der Ströme sind noch nicht vorhanden. Sehr deutlich tritt auch an diesen Kulturen die größere Wachstumsintensität der Oberhefe Rio in Erscheinung. Die Differenz in der Entwicklung ist zwischen den bei höherer und den bei niedrigerer Temperatur gewachsenen Kolonien dieser Hefe keine besonders auffällige. Es ist höchstens eine etwas geringere Ausbildung der Ströme zu konstatieren.

Die mikroskopische Untersuchung dieser Riesenkolonien ergab, daß auch bezüglich der Zellformen, welche die Kolonien bildeten, dieselben

Verhältnisse vorliegen wie bei 48 Stunden alten, bei ca. 20° gewachsenen Kolonien. Die Entwicklung wurstförmiger Zellen ist nur bei Oberhefe Rio eine intensivere und auch auf das Innere der zentralen Partie ausgedehnt. Bei den Kolonien der beiden anderen Hefen finden sich wurstförmige Zellen nur in geringer Anzahl in der Randpartie, auf der Oberfläche und im zentralen Teil kommen neben den Zellen der Aussaat viele Hautzellen 1. Generation vor. „Kronenbildung“ ist sehr häufig zu beobachten.

Die gleichaltrigen Riesenkolonien auf 16-proz. Würzgelatine waren unterdessen so wenig gediehen, daß bis zur mikroskopischen Untersuchung noch einige Tage gewartet wurde. Der Hefebelag hatte sich stark in die Gelatine eingesenkt, war ziemlich flach und im Gegensatz zu den sonstigen Kolonien etwas dunkler gefärbt. Nach 8 Tagen glichen die Kolonien etwa denjenigen, welche bei 20° auf 10-proz. Gelatine 3 Tage alt waren. Bei den Hefen 25 und 170 waren neben einer ziemlich schwachen Ausbildung des Walles bereits die Anlagen der Ströme zu bemerken. Bei Hefe 170 macht sich schon eine hellere Färbung der Peripherie geltend. Hefe Rio ist auch hier den beiden anderen Hefen in der Entwicklung vorausgeeilt, die Ströme sind schon deutlich ausgebildet und durch eine intensive weiße Färbung und trockene Beschaffenheit auffallend (Taf. I, Fig. 4). Diese beiden letzteren Kennzeichen dehnen sich im Laufe der Entwicklung der Riesenkolonien auch auf ihre übrigen Teile aus. Nach 46 Wochen sind die Kolonien der Hefen Rio und 170 etwa 2 cm im Durchmesser groß, vollständig weiß, wie in der Regel die Oberflächen der auf konzentrierteren festen Nährböden wachsenden Kolonien¹⁾, sehr flach auf der Gelatine ausgebreitet, und senden große, vielfach geteilte, durch ihre gewellte Oberfläche ausgezeichnete Ströme aus. Bei Hefe 25 war die anfänglich gute Entwicklung nach 3—4 Wochen zum Stillstand gekommen, die weiße mehligte Beschaffenheit der Oberfläche der Kolonien hatte einer braungelben schleimigen Platz gemacht, bald darauf war die Farbe noch tiefgelber und die Beschaffenheit der Hefemasse sehr trocken geworden. Nach ca. 6 Wochen, also zu einer Zeit, in der die Riesenkolonien der beiden Oberhefen Rio und 170 erst zur vollkommenen Ausbildung gelangt waren, waren die Riesenkolonien der Oberhefe 25 auf 16-proz. Würzgelatine vollständig vertrocknet und verkümmert. Diese geringe Lebensdauer der Riesenkolonien trat auch fortgesetzt bei sämtlichen älteren Kulturen zu Tage (siehe auch Taf. II, Fig. 2), so daß sie als sehr charakteristischer Unterschied gegenüber den Hefen Rio und 170 angesehen werden muß.

Bei der mikroskopischen Untersuchung der 8 Tage alten, auf 16-proz. Würzgelatine bei 10—12° gewachsenen Riesenkolonien ergab sich bei allen drei Hefen durchweg, daß die Form der Zellen im allgemeinen eine kleinere ist, die Membran dagegen überall eine merkliche Verdickung erfahren hat, auch bei den zahlreich zur Ausbildung gekommenen Hautzellen 1. Generation (häufig Kronenbildung). Sämtliche Zellen zeigen starke Glykogenreaktion. Der Rand und die weißgefärbten Stromanlagen bei der Oberhefe Rio bestehen aus gestreckt ovalen Zellen, bei den Hefen 25 und 170 ist der Wall und die Andeutungen der Ströme aus kleinen gestreckten Zellen (8—9:2—3 μ) gebildet, die oft

1) Will, H., Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. (Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. 1904. p. 177.)

die bizarrsten Formen angenommen haben und jedenfalls pathologische Formen darstellen.

Die Erniedrigung der Temperatur hat also im wesentlichen nur einen retardierenden Einfluß auf das Wachstum der Riesenkolonien. Dagegen bringt die Erhöhung der Konzentration der Würzgelatine, wie nicht anders zu erwarten war, nicht nur ebenfalls eine Verzögerung im Wachstum der Kolonien mit sich, sondern verursachte auch eine, wenn auch nicht bedeutende, Veränderung in der Erscheinung der Riesenkolonien und der sie zusammensetzenden Zellelemente. Es sind aber diese Unterschiede durchaus nicht prinzipielle, sondern nur graduelle. Die Kolonien werden kompakter und manche Erscheinungen, welche an den Kolonien auf geringerprozentigerem Substrat nur angedeutet sind (konzentrische Streifung), werden schärfer ausgeprägt (gewellte Oberfläche). Ebenso sind die kleineren und gedrungenen Zellen nur auf die höhere Konzentration des Nährbodens zurückzuführen, wie denn überhaupt höhere Konzentrationen ungünstiger für die Entwicklung der Hefezellen sind. Die für die Oberhefe Rio charakteristische frühzeitige Anlage der Ströme kommt auch auf höher konzentriertem Nährboden zum Ausdruck, ein noch schärferer Unterschied zwischen den Oberhefen Rio und 170 einerseits und der Oberhefe 25 andererseits ist durch die vorzeitig eintretende Verkümmern und Vertrocknung der Riesenkolonien dieser Hefe auf höher konzentrierter Würzgelatine gegeben. Eine ähnliche Beobachtung konnte übrigens Lindner¹⁾ bezüglich der untergärigen Bierhefe Saaz machen.

Im weiteren Verlauf der Entwicklung der Riesenkolonien machen sich allmählich jene Unterschiede in der Wachstumsform immer mehr bemerkbar, durch welche eine Trennung der drei obergärigen Bierhefen in 2 Gruppen ermöglicht wird, und welche schon am 5. Entwicklungstag, wenn auch noch wenig auffallend, konstatiert werden konnten. Nach 15 Tagen (Taf. II, Fig. 1) hatten die Riesenkolonien, je nach der Größe des aufgetragenen Hefetropfens, einen Durchmesser von 1—1,5 cm, gelblichweiße Farbe und die Konsistenz gewöhnlicher, gepreßter Hefe. Die Oberhefe Rio ist den beiden anderen Hefen wieder in der Entwicklung vorausgeeilt. Der tief eingesenkte Teller ist durch einen aufgewulsteten steilen Rand begrenzt, an den fast unmittelbar sich die Ströme anschließen. Der Boden des Tellers ist mit Warzen besetzt, der Wall sowie die Ströme zeigen eine konzentrische, terrassenförmige Streifung. Beachtenswert ist auch hier wieder die bereits erwähnte eigentümliche einseitige Ausbildung der Ströme bei Oberhefe Rio. Die einzelnen Ströme sind durch sehr tief einschneidende Furchen getrennt, breiten sich weit und fächerförmig aus und sind tief gebuchtet, infolgedessen ist die Peripherie der Riesenkolonie sehr unregelmäßig. Oberhefe 170 zeigt stark höckerige Beschaffenheit der Telleroberfläche. Bemerkenswert ist der relativ breite Wall, der diese von den Strömen trennt. Die Furchung ist noch wenig ausgebildet, infolgedessen erscheinen die Ströme noch wenig getrennt und auch in den Strömen selbst ist die Ausbildung der einzelnen Teilströme noch wenig sichtbar. Indessen ist doch die Peripherie der Kolonie ziemlich stark gebuchtet und, wenigstens im Vergleich zu den Kolonien der Oberhefe 25, unregelmäßig. Bei der Kolonie der Oberhefe 25 ist der Teller glatt, der

1) Lindner, P., Das Wachstum der Hefen auf festen Nährböden. (Wochenschr. f. Brauerei. 1893. p. 693.)

Wall wenig steil und aufgewulstet. Die Furchung, welche durch die Ausbildung der Ströme bedingt wird, ist ziemlich flach, die Ströme selbst sind fast gänzlich ungeteilt. Die Peripherie der Kolonie besitzt deshalb eine gewisse Regelmäßigkeit der Ausbuchtung.

Bei gleichaltrigen Kolonien, welche auf 16-proz. Würzelatine gewachsen waren, kam der Unterschied in der Ausbildung der Ströme noch mehr zum Ausdruck. Oberhefe Rio und Oberhefe 170 besaßen fächerförmig ausgebreitete, vielfach gelappte und gebuchtete Ströme, die sich durch eine infolge ihrer intensiv weißen Farbe kenntliche Zuwachszone von der Unterseite der Kolonie her immer mehr ausdehnten. Oberhefe 25 dagegen besaß kompakte, wenig geschiedene Ströme, die kaum eine Spur von Buchtung und Teilung zeigten.

Bei vorsichtigen Schnitten durch 2—3 Wochen alte Kolonien konnte auch ein bedeutender Fortschritt in der Ausbildung der schon erwähnten höckerigen Anhänge an der Unterseite der Riesenkolonien beobachtet werden. Figur 2 (Taf. III) stellt einen Versuch dar, diese von Will als „Rhizoïden“ bezeichneten Gebilde zu photographieren, was wegen der geringen Durchlässigkeit der rotbraunen Würzelatine für chemisch wirksame Strahlen nicht ohne Schwierigkeit war. Auf den ersten Blick fällt hier die Kolonie der Oberhefe Rio wegen ihrer großen traubigen „Rhizoïden“ auf. Auch bei der Oberhefe 170 ist die reiche Verzweigung der Ströme durch die mehr oder weniger reiche Teilung der „Rhizoïden“ bedingt. Gegenüber den beiden Stämmen Rio und 170 macht die Kolonie der Oberhefe 25 schon auf der Unterseite den Eindruck eines mehr kompakten und regelmäßigen Gebildes. Ebenso wie die verschiedene Ausbildung der Ströme, läßt also auch die Form der „Rhizoïden“ deutliche Unterschiede zwischen den drei Hefen erkennen, besonders deutlich ist die Trennung von Rio und 170 einerseits und 25 andererseits. Es ist dies auch ganz naturgemäß, da nach den Untersuchungen Wills die Strömung eben nur an der Oberfläche der Gelatine besonders ausgebildete „Rhizoïden“ sind. Uebrigens wird die Angabe Wills¹⁾, daß die „Rhizoïden“ eine zentripetale Ausbildung zeigen, durch die bildliche Darstellung der „Rhizoïden“ bestätigt. Ihre ersten Anlagen erscheinen am Rande der Kolonie und von hier aus setzt sich ihre weitere Ausbildung gegen die Mitte zu fort, so daß die am Außenrande des Rhizoïdenkranzes stehenden Auswüchse sich schon durch ihre geringeren Dimensionen als Neubildungen kennzeichnen.

Was die Zellelemente betrifft, welche die Riesenkolonien in diesem Stadium der Entwicklung zusammensetzen, so hat sich im allgemeinen wenig geändert. Nur hat sich die Scheidung der die Riesenkolonien zusammensetzenden Zellformen in zwei Schichten deutlich vollzogen. Die oberflächlichen Schichten der Kolonien, die „Rindenschicht“, setzen sich ausschließlich aus runden oder ovalen Zellen mit mehr oder weniger verdickter Membran und mit einem reichlich von Oeltröpfchen durchsetzten Plasma zusammen, nur in der Oberfläche des Tellers herrschen rundliche Zellen vor, welche teils den Bodensatzzellen, teils den Hautzellen 1. Generation ähnlich sind. Der übrige unter der Rindenschicht gelegene Teil der Kolonie, sowohl die Randpartie als auch die Unterseite mit den „Rhizoïden“ besteht aus sproßverbänden sehr langgestreckter, meist wurstförmiger Zellen. Diesen Teil der Riesenkolonie nennt Will „die Markschrift“.

1) Will, H., Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. (Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. 1902. p. 265.)

Innerhalb des vorstehend geschilderten allgemeinen Schemas des anatomischen Baues der Riesenkolonien machen sich nun bei den drei obergärigen Hefen mehrfache Unterschiede bemerkbar, besonders hinsichtlich der Zusammensetzung der Ströme und „Rhizoiden“. In diesen herrschen fast ausschließlich bei Hefe Rio große sproßverbände langgestreckter wurstförmiger Zellen mit zarter Membran und reichem Glykogengehalt vor. Querwände wurden niemals beobachtet. In den Strömen bilden ebenfalls diese wurstförmigen zarten Zellen die überwiegende Mehrzahl, doch liegen zwischen ihnen, besonders gegen die Oberfläche zu, einzelne Nester typischer Dauerzellen, oft mit breiter Basis einander auf sitzend. Hin und wieder konnte auch beobachtet werden, daß einzelne dieser Dauerzellen eine wurst- oder schlauchförmige derbwandige Tochterzelle erzeugt hatten, die ganz das Aussehen echter Hautzellen der 2. Generation besaßen (Länge 20—24 μ , Breite 4—5 μ). Das frühzeitige Auftreten echter Dauerzellen in den Strömen ist für Oberhefe Rio charakteristisch und analog der gleichen Eigenschaft bei der Entwicklung der Haut auf flüssigem Nährsubstrat. Auch bei den Hefen 25 und 170 bestehen die Ströme und „Rhizoiden“ aus zartwandigen wurst- bzw. birnförmigen Zellen. Ebenso finden sich in den Strömen vereinzelt typische Dauerzellen, bei denen jedoch niemals das Aussprossen von derben langgestreckten Tochterzellen beobachtet wurde. In den Rhizoiden fanden sich niemals Dauerzellen vor.

Bezüglich der Entwicklung der jungen Riesenkolonien und der sie zusammensetzenden Formen besteht also im allgemeinen eine Uebereinstimmung zwischen den drei obergärigen Hefen, die Unterschiede sind nur graduelle, indem Oberhefe Rio sowohl hinsichtlich der Entwicklung der ganzen Kolonie als auch hinsichtlich des Auftretens der verschiedenen aufeinanderfolgenden Zellgenerationen den beiden anderen Hefen voraus eilt. Sehr bald macht sich auch eine Differenzierung durch den Habitus der Kolonien, besonders durch die Ausbildung der Ströme bemerkbar, durch welche Oberhefe Rio und 170 einerseits, von Oberhefe 25 andererseits geschieden werden. Gegenüber den vier untergärigen Hefen Wills ist die Entwicklung der Riesenkolonien entsprechend dem schnelleren Wachstum der obergärigen Hefen eine etwas intensivere. Als einziger bemerkenswerter Unterschied im Bau der Riesenkolonie bei den obergärigen Hefen ist die relativ frühzeitige (15 Tage) Ausbildung typischer Dauerzellen zwischen den langgestreckten zarten Zellen der Ströme; in den jungen Riesenkolonien seiner vier untergärigen Hefen auf 10-proz. Würzelgelatine hat Will niemals in den Strömen typische Dauerzellen beobachtet. Im übrigen vollzieht sich die Entwicklung der Riesenkolonien bei den drei obergärigen Hefen nach den gleichen Grundsätzen, die Will für seine untergärigen Hefen feststellen konnte. Oberhefe 25 zeigt in Bezug auf die etwas spätere Ausbildung von langgestreckten Zellen (s. p. 450) eine gewisse Aehnlichkeit mit der untergärigen Bierhefe, Stamm 7.

Die Entwicklung der Riesenkolonien der drei obergärigen Bierhefen erfolgt nun nach den angegebenen Grundzügen auf die Art weiter, daß von der Unterseite her immer neue Zuwachszonen auftreten. Es entstehen so ca. 2—3 cm im Durchmesser große Kolonien mit den für

die betreffende Hefeart charakteristischen, schön ausgeprägten Wachstumserscheinungen. Figur 2 auf Tafel II stellt vollkommen ausgewachsene ca. 2 Monate alte Riesenkolonien der beiden Oberhefen Rio und 170 dar, welche die allgemeine Uebereinstimmung in der Ausbildung der Ströme und doch auch wieder die feineren Unterschiede zwischen den beiden Hefen zeigen. Die Farbe der Kolonien ist grauweiß, die Oberfläche ziemlich trocken, die jüngste Zuwachszone, die sich „spitzenartig“ um die ganze Peripherie der Kolonie legt, durch etwas hellere Färbung ausgezeichnet. Die beiden Kolonien zeigen scharf getrennte, in einzelne Lappen zerteilte, reich gegliederte Ströme, ihre Oberfläche ist leicht gewellt. Der bereits erwähnte konstante Unterschied zwischen den Kolonien der beiden Hefen ist sehr gut ausgebildet; es ist dies die starke Aufwulstung des Walles bei Hefe Rio, während bei Hefe 170 der Wall relativ flach und breit ist. Die Riesenkolonie der Oberhefe 25 besitzt nach ca. 2 Monaten ebenfalls eine weißgelbe Farbe und ziemlich trockene Beschaffenheit. Der Teller ist an der Oberfläche glatt und nicht besonders stark eingesenkt. Der Wall ist wenig steil und sehr breit. Die Ströme sind durch relativ seichte Furchen voneinander getrennt, sie selbst sind sehr wenig gegliedert und ihre Oberfläche ist fast vollständig glatt. Während bei den Oberhefen Rio und 170 die „Rhizoiden“ gut ausgebildet und ziemlich stark geteilt sind, besitzen die „Rhizoiden“ der Oberhefe 25 auch in den ausgewachsenen Riesenkolonien einfache Warzenform; sie sind fast gar nicht geteilt. Bemerkenswert ist ferner, daß die ausgewachsenen Riesenkolonien der Oberhefe 25 im Gegensatz zu den beiden anderen Hefen gegen Temperatureinflüsse sehr empfindlich sind. Durch die etwa vierstündige Einwirkung einer Temperatur von ca. 20°, wie sie durch das Photographieren bedingt war, ist, wie Figur 2 der Tafel II zeigt, die Kolonie der Oberhefe 25 oberflächlich schon stark verschleimt. Wie bereits erwähnt, ist diese Neigung der Riesenkolonien der Oberhefe 25, frühzeitig zu verschleimen oder zu verkümmern, ein gutes Unterscheidungsmerkmal gegenüber den beiden anderen Oberhefen Rio und 170.

Die mikroskopische Untersuchung von Schnitten aus ausgewachsenen Riesenkolonien zeigt keinen wesentlichen Fortschritt in der Entstehung neuer Zellelemente in denselben. Die echten Dauerzellen, welche bei der Oberhefe Rio zwischen den langgestreckten Zellen der Ströme gefunden wurden, sind etwas häufiger geworden, ebenso werden sie jetzt auch zwischen den langgestreckten Zellen der Ströme bei Hefe 25 etwas häufiger angetroffen, während sie bei Hefe 170 immer noch selten sind. Im übrigen ist die Verteilung der verschiedenen Zellformen in der Mark- und Rindenschicht noch die nämliche wie bei den 2—3 Wochen alten Kolonien.

Unter besonders günstigen Umständen (im Winter) gelang es, Riesenkolonien der drei obergärigen Bierhefen 5 Monate zu erhalten, ohne daß allzu starke Verschleimung und Verflüssigung der Gelatine eingetreten wäre (Tafel III, Figur 1). Die Kolonien der obergärigen Hefen Rio und 170 fallen auch hier sofort durch die reiche Gliederung der Ströme auf. Der Teller der Hefe Rio zeigte eine kraterähnliche Vertiefung, die mit Schleim gefüllt war. Der Wall ist wieder sehr steil und aufgewulstet, während dagegen die Kolonie der Oberhefe 170 einen flachen und breiten Wall besitzt. Die Oberfläche der Ströme ist besonders bei der Hefe Rio fein gekräuselt. Die Farbe der Riesenkolonien ist ein schmutziges Gelb, die feuchtglänzende Beschaffenheit der Ober-

fläche zeigt die beginnende Verschleimung an. Die Kolonie der Oberhefe 25 ist auch hier durch ihren kompakten Bau, durch wenig ausgeprägte Trennung der einzelnen Ströme und durch den fast völligen Mangel an Gliederung bei denselben leicht kenntlich. Die „Rhizoiden“ sind bei den Kolonien sämtlicher drei Hefen tief in die Gelatine eingewachsen und zeigen die für die betreffende Hefe charakteristische Form und Anordnung.

Interessant war der anatomische Bau dieser 5 Monate alten Riesenkolonien. Bei der Oberhefe Rio besteht die Oberfläche des Tellers der Kolonie aus runden und ovalen Zellen von der Größe der Bodensatzzellen, ihre Membran ist ziemlich stark verdickt, das Plasma körnig und mit einzelnen großen Oeltröpfchen durchsetzt. Sie sind also wohl als Dauerzellen anzusprechen. Die Reaktion auf Glykogen bei diesen Zellen war schwach. Typische Hautzellen 1. Generation sind an der Oberfläche der Kolonie selten anzutreffen, ebenso auch im stark aufgewulsteten Ring. dagegen sind sie in der Oberfläche der Ströme ziemlich häufig. Der Inhalt des auf der Telleroberfläche befindlichen Schleimkraters enthielt neben zahlreichen Dauerzellen ein dichtes Geflecht der wurstförmiger Zellen mit einem reichlich von Oeltröpfchen durchsetzten Plasma, die den Hautzellen 2. Generation in älteren Hautbildungen vollständig gleichen. Die Ströme sind von einer oberflächlichen Schicht gedrängter Zellen bedeckt, sehr häufig sind runde Zellen, welche sich trotz der zahlreichen Oeltröpfchen im Plasma und des, wenn auch schwachen Glykogengehaltes doch durch ihre geringere Größe und die geringere Dicke der Membran von typischen Dauerzellen unterscheiden. Die inneren Partien der Ströme und des zentralen Teiles, die Marksicht bestehen vornehmlich aus langgestreckten schlanken Zellen. Besonders gegen die Oberfläche zu finden sich zahlreiche Nester von Dauerzellen, welche oft 2—3 keimschlauchähnliche derbe Tochterzellen (Hautzellen 2. Generation) besitzen. Die „Rhizoiden“ bestehen ausschließlich aus einem dichten Geflecht schlanker wurstförmiger Zellen mit ziemlich großen Vakuolen und stark reduziertem, ziemlich homogenem Plasma. Bohnenförmig gekrümmte und verzerzte Zellen sind häufig.

Bei der Kolonie der Oberhefe 25 sind in der Oberfläche des Tellers die Zellen mit verdickter Membran und körnigem Inhalt, welche die Größe der Bodensatzzellen besitzen, nicht besonders häufig, sehr zahlreich dagegen sind ovale und elliptische Zellen der 1. Hautgeneration. Auch einige Riesenzellen wurden beobachtet. Diese ovalen und elliptischen Zellen erstrecken sich über die ganze Oberfläche der Kolonie in charakteristischen kurzen sproßverbänden, in der Rindenschicht der Ströme sind daneben auch kleinere rundliche Zellen mit verdickter Membran und einigen wenigen Oeltröpfchen. Die Marksicht der Ströme besteht aus zarten schlanken wurstförmigen, bisweilen auch keulenförmigen Zellen, zwischen denen vereinzelt Nester typischer Dauerzellen liegen. Ein Aussprossen derselben mit derben, langgestreckten Tochterzellen wurde nicht beobachtet. Die zentrale Partie der Marksicht und die „Rhizoiden“ bestehen ausschließlich aus schlanken sproßförmigen Zellen in reichen sproßverbänden. Die zarte Beschaffenheit der Membran und des Plasmas dieser langgestreckten Zellen unterschied sie scharf von den Zellen der 2. Hautgeneration, obwohl sie bezüglich der äußeren Gestalt manche Ähnlichkeit mit ihnen aufwies.

Der Teller bei den Riesenkolonien der Hefe 170 zeigt ebenfalls wenig echte Dauerzellen; runde und eiförmige Bodensatzzellen, welche

durch die Verdickung der Membran den echten Dauerzellen zwar nahe stehen, sich aber doch durch ihr durch große Vakuolen stark reduziertes, nur wenige Oeltröpfchen enthaltendes Plasma von diesen unterscheiden, setzen die Oberfläche des Tellers fast ausschließlich zusammen. Oft sprossen aus diesen Zellen zahlreiche typische birnförmige Hautzellen 1. Generation. Kronenbildung ist häufig, nicht selten sind auch Riesenzellen zu beobachten. Die Oberfläche des Walles und der Ströme ist vorwiegend aus gedrunghenen Hautzellen 1. Generation gebildet, deren Membran oft eine leichte Verdickung erfahren hat. Daneben finden sich kleine runde Zellen mit ebenfalls leicht verdickter Membran und zahlreichen Oeltröpfchen im Plasma, gegen die Peripherie der Kolonie auch etwas gestrecktere Formen. Die Marksicht der Ströme und die „Rhizoiden“ sind fast ausschließlich aus zarten, langgestreckten, oft gekrümmten Zellen gebildet, die meist große Vakuolen und ziemlich reichen Glykogengehalt besitzen. Auch echte Dauerzellen kommen, allerdings sehr selten, in den Strömen der Riesenkolonien der Oberhefe 170 vor; einzelne derselben hatten 2—3 lange keimschlauchähnliche Tochterzellen mit derber Membran und körnigem Plasma erzeugt.

Der Grundplan, nach dem die 5 Monate alten Riesenkolonien der drei obergärigen Hefen zusammengesetzt sind, ist also ebenso wie früher bei allen drei Hefen der gleiche, wie ihn Will für den Aufbau der Riesenkolonien seiner untergärigen Bierhefen angibt. Bemerkenswert ist die Gegenwart zahlreicher typischer Hautzellen 2. Generation in dem auf der Telleroberfläche bei Hefe Rio befindlichen Schleimkrater, da auch Will¹⁾ die gleiche Beobachtung machen konnte. Trotz dieser fast allgemeinen Uebereinstimmung im anatomischen Bau der Riesenkolonien besteht doch zwischen den vorliegenden drei obergärigen Hefen und den untergärigen Bierhefen Wills ein markanter Unterschied: es ist dies das die bei sämtlichen drei obergärigen Hefen beobachtete, mehr oder minder häufige Vorkommen echter Dauerzellen zwischen den zarten, langgestreckten Zellen der Ströme und das Aussprossen derselben in langen keimschlauchähnlichen derben Tochterzellen der 2. Hautgeneration, die sich deutlich von den zwar ebenfalls langgestreckten, aber zarteren und schlankeren Zellen ihrer Umgebung abhoben. Nach den Angaben Wills²⁾ treten bei seinen untergärigen Hefearten typische Dauerzellen und Hautzellen 2. Generation nur in der Oberfläche der zentralen Partie der Riesenkolonien auf, in den Strömen wurden sie niemals beobachtet. Im übrigen sei noch darauf hingewiesen, daß die späte und seltene Ausbildung von Dauerzellen in den Riesenkolonien der Oberhefe 170 ein Analogon in der gleichen Erscheinung bei der Hautentwicklung besitzt.

Ein Rückblick auf die im Vorstehenden beschriebenen Untersuchungen über die Entwicklung und den anatomischen Bau der Riesenkolonien der drei obergärigen Bierhefen zeigt, daß sie sich hinsichtlich des Habitus der Kolonien scharf in zwei Gruppen trennen lassen, deren eine, gekennzeichnet durch die reiche Gliederung der Ströme und „Rhizoiden“ von den Oberhefen Rio und 170 gebildet wird, deren zweite Oberhefe 25 mit ihren kaum gegliederten, mehr kompakten „Rhizoiden“ und Strömen darstellt. Hinsichtlich des anatomischen Baues der Riesenkolonien zeigt Hefe Rio schon frühzeitig eine beträchtliche schnellere Entwicklung der

1) Will, H., Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. (Zeitschrift für das gesamte Brauwesen. 1904. p. 194.)

2) Will, H., *ibid.* 1904. p. 193 ff.

verschiedenen, die Riesenkolonieen aufbauenden Zellformen. Besonders charakteristisch ist das frühzeitige Vorkommen echter Dauerzellen und der aus diesen erzeugten, den Hautzellen 2. Generation gleichenden Tochterzellen. Sowohl wegen dieser größeren Intensität der Entwicklung als auch im äußeren Habitus der Riesenkolonieen besitzt Oberhefe Rio eine gewisse Aehnlichkeit mit dem untergärigen Stamm 6 der von Will untersuchten Bierhefen. Der Habitus der Riesenkolonieen der Oberhefe 170 ist demjenigen der Kolonieen der Hefe Rio sehr ähnlich, in Bezug auf die Intensität der Entwicklung nimmt sie eine gewisse Mittelstellung zwischen den Hefen Rio und 25 ein. Mit letzterer Hefe hat sie das relativ seltene und späte Auftreten von echten Dauerzellen gemein. Oberhefe 25 endlich unterscheidet sich von den beiden anderen Hefen schon durch den kompakten Bau ihrer Riesenkolonieen, ferner durch die spätere Ausbildung gestreckter Zellen in jungen Kolonieen und durch ihre Neigung zu vorzeitiger Verkümmern und Verschleimung. Hinsichtlich dieser Punkte ist sie dem untergärigen Stamm 7 von Will nicht unähnlich.

Das Studium der Riesenkolonieen und ihrer Entwicklung hat gezeigt, daß in dieser Hinsicht zwischen den obergärigen und den untergärigen Bierhefen Unterschiede nicht bestehen. Die geringen zuweilen zu Tage tretenden Differenzen sind nur graduelle und nicht schärfer ausgeprägt, als dies auch zwischen einzelnen Arten von untergäriger Bierhefe der Fall ist. Auch bei den obergärigen Bierhefen beteiligen sich am Aufbau der verschiedenen Parteien der Riesenkolonieen die gleichen Zellelemente in der nämlichen Reihenfolge, wie dies Will für seine untergärigen Bierhefen festgestellt hat. Allerdings konnten in vielen Fällen bei den drei obergärigen Hefen in einem gewissen Entwicklungsstadium der Kolonieen, wie bereits bemerkt, innerhalb der Ströme echte Dauerzellen mit ihren, den Hautzellen 2. Generation gleichen Tochterzellen beobachtet werden, die nach den Untersuchungen Wills in den Strömen seiner untergärigen Bierhefen niemals vorkommen. Ob damit tatsächlich ein prinzipieller Unterschied zwischen obergärigen und untergärigen Hefen gegeben ist, müßten erst weitere vergleichende Untersuchungen definitiv entscheiden.

Nach den vorliegenden Untersuchungen eignet sich zwar die Wachstumsform der obergärigen Hefen auf festem Nährboden sehr gut zur Charakterisierung der einzelnen Arten, sie läßt jedoch keine definitive Entscheidung zu, ob obergärige oder untergärige Bierhefe vorliegt.

Die zweite Entwicklungsphase der Riesenkolonieen, welche nach den Angaben Wills bei den untergärigen Bierhefen hauptsächlich durch das Auftreten derber wurstförmiger oder anders geformter Zellen (Hautzellen 2. Generation) in der zentralen Partie und nahe der Oberfläche charakterisiert ist, trat bei den untersuchten drei obergärigen Hefen nicht in Erscheinung, wenn auch einige diesbezügliche Beobachtungen an den 5 Monate alten Kolonieen der Oberhefe Rio¹⁾ darauf hindeuten, daß bei der Verwendung eines festen Nährbodens, der für das Auftreten der zweiten Entwicklungsphase günstiger ist, als die reine 10-proz. Würzelatine, auch bei den obergärigen Bierhefen diese zum Ausdruck kommt.

1) Siehe V. Abschnitt p. 472.

VI. Chemisch-physiologische Eigenschaften der drei obergärigen Bierhefen.

Zu einer einigermaßen auf Vollständigkeit Anspruch machenden Charakteristik einer Hefeart gehört unstreitig auch eine Darstellung ihres chemisch-physiologischen Verhaltens, vor allem gegenüber den Zuckerarten. Wenn ja einerseits die physiologischen Eigenschaften der Hefen allein wohl nicht zur vollständigen Differenzierung der verschiedenen Hefearten genügen dürften oder gar, wie dies A. Bau¹⁾ vorgeschlagen hat, zur Aufstellung eines natürlichen Systems verwendet werden können, so wäre es doch auch andererseits gewiß unrichtig, bei vergleichenden Untersuchungen an verschiedenen Hefearten sich lediglich auf die Festlegung von morphologischen und entwicklungsgeschichtlichen Unterschieden zu beschränken. Allerdings muß diesen Gesichtspunkten und nicht den chemisch-physiologischen Eigenschaften der Hefen bei einer genauen Charakteristik derselben die Hauptrolle eingeräumt werden.

Diejenige Eigenschaft einer Hefe, welche unter Umständen am leichtesten und raschesten typische Unterschiede gegenüber anderen Hefen erkennen lassen kann, ist ihr Verhalten gegen gewöhnliche Braunbierwürze. Durch die Arbeiten von P. Lindner²⁾, M. Irmisch³⁾, E. Prior⁴⁾ u. a. wurde festgestellt, daß die Hefen bezüglich der Vergärung der Kohlehydrate der Bierwürze sich in zwei große Hauptgruppen, in die wenig zahlreichen niedrigvergärenden (Typus Saaz) und in die weitaus die Mehrzahl bildenden hochvergärenden (Typus Froberg). Hierzu kommt dann noch als dritter Typus Hefe Logos mit höchster Vergärung.

Zur Bestimmung des Vergärungsgrades der drei obergärigen Hefen Rio, 25 und 170, d. h. der in Prozenten des ursprünglich vorhandenen Extraktes ausgedrückten Menge von vergorenem Extrakt der Bierwürze wurden die drei Hefen, sowie als Vergleichshefen Reinkulturen der untergärigen Hefen Froberg und Saaz mehrmals in 10-proz. Würze aufgefrischt. Von den letzten Kulturen wurde die vergorene Würze über den Bodensätzen bis auf einen geringen Rest abgegossen und letztere zu einer dickbreiigen Masse aufgeschüttelt. Von dieser wurde je 1 ccm in sterile, in größeren Erlenmeyer-Kolben befindliche Braunbierwürze (ca. 200 g mit 10 Proz. Extrakt) geimpft. Die Kolben wurden mit einem Schwefelsäuregärverschuß versehen und blieben bei Zimmertemperatur (18—20°) stehen.

Vorhergegangene vorläufige Bestimmungen des Vergärungsgrades der drei obergärigen Hefen hatten ergeben, daß Hefe 25 niedrigvergärend, Hefe 170 hochvergärend ist, während Hefe Rio sich bald dem einen, bald dem anderen Typus zuneigte. Als Grund für diese wechselnde Vergärung der Bierwürze muß die Eigentümlichkeit der Oberhefe Rio angenommen werden, sich frühzeitig in großen Flocken abzusetzen und einen festen Bodensatz zu bilden, wodurch die Gärtätigkeit der Hefezellen vorzeitig zur Ruhe kommt. Diese Eigenart gewisser Oberhefen

1) Bau, A., Der Sammelbegriff *Saccharomyces cerevisiae*. (Wochenschrift f. Brauerei. 1894. No. 43.)

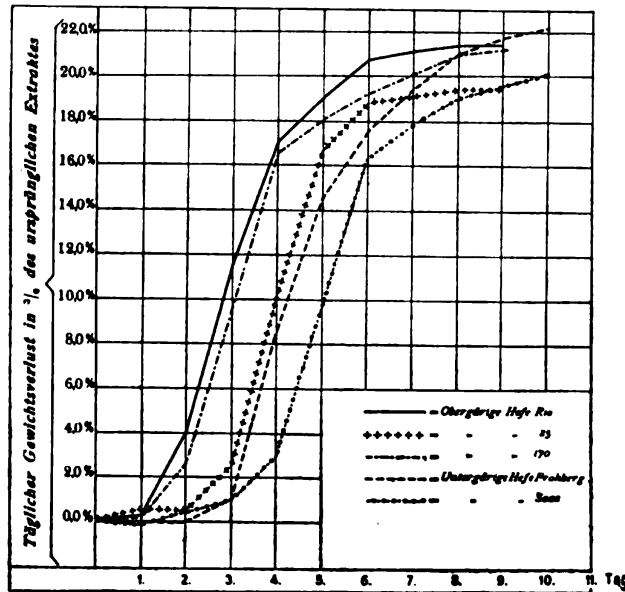
2) Lindner, P., Ueber einige Gärversuche mit verschiedenen Hefen. (Wochenschrift f. Brauerei. 1888. No. 14.)

3) Irmisch, M., Der Vergärungsgrad, zugleich Studien über zwei Hefecharaktere. (Wochenschrift f. Brauerei. 1891. p. 1135.)

4) Prior, E., Sind die Hefen Froberg und Saaz der Berliner Brauereistation im physiologischen Sinn? (Bayrisches Brauerjournal. 1894. p. 518.)

wurde von F. Schönfeld¹⁾ auch unter praktischen Verhältnissen beobachtet, und auch P. Lindner²⁾ scheint ähnliche Erfahrungen gemacht zu haben.

Infolge dieser Eigenart der Oberhefe Rio wurden während der ganzen Gärdauer die Kolben sehr oft aufgeschüttelt, um so sämtliche fünf Hefen zur vollen Gärleistung zu zwingen. Die drei Oberhefen, vor allem Rio und 170, zeigten bei der Gärung die für obergärige Hefen charakteristische Eigenschaft der starken Kohlensäureentwicklung und hefiger Schaumdecken, auch verlief die Gärung viel stürmischer als bei den untergärigen Hefen Froberg und Saaz. Die sämtlichen Kolben wurden täglich gewogen, nachdem sie vorher durch kräftiges Schütteln möglichst von der Kohlensäure befreit worden waren. In folgender Zeichnung sind die durch die Gärung entstandenen Gewichtsverluste in den einzelnen Tagen in Kurven dargestellt. Da die Würze 10 Proz. Extrakt enthielt, ergab die Multiplikation der Gewichtsverluste für 100 g Würze mit 10 zugleich den entstandenen Verlust in Prozenten des ursprünglichen Gesamtextraktes.



Die Zahlen sind Durchschnittsergebnisse aus zwei Parallelversuchen.

Aus den Kurven ist ersichtlich, daß die beiden obergärigen Bierhefen Rio und 170 am raschesten die Würze vergären, obgleich Oberhefe 25 in den ersten 24 Stunden einen gewissen Vorsprung zeigt. Dann folgt Oberhefe 25, die gegenüber den beiden vorhergehenden Hefen im allgemeinen stets um ca. 1 Tag in der Gärung zurück ist. Erst dann folgt die untergärige Hefe Froberg; die Aehnlichkeit dieser Kurve

mit der Gärkurve der Oberhefe Rio fällt sofort auf. Am langsamsten ist der Gärungsverlauf bei der untergärigen Hefe Saaz, deren Gärungskurve mit derjenigen der Oberhefe 25 eine gewisse Aehnlichkeit besitzt. Im allgemeinen zeigen die Gärversuche mit den obergärigen Hefen nach ca. 8 Tagen keine Gewichtsabnahme mehr, diejenigen der untergärigen Hefen lassen dagegen sogar noch am 10. Tage eine gewisse geringe Gewichtsabnahme erkennen. Nach 12 Tagen wurden die vergorenen Würzen analysiert, es ergaben sich hierbei folgende Resultate.

(Siehe Tabelle p. 477.)

Es gehört also, wie schon öfters bemerkt, die obergärige Hefe 25 dem im allgemeinen selteneren Typus der niedrigvergärenden Hefen an, die beiden obergärigen Hefen Rio und 170 sind hochvergärend (Typus Froberg). Von den vier untergärigen Hefen Wills ist nur Stamm 7

1) Schönfeld, F., Reinzüchtung und Versand von obergärigen Brauereihefen. (Wochenschrift f. Brauerei. 1899. p. 153.)

2) Lindner, P., Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben. Berlin. 3. Auflage 1901. p. 203.

| Bezeichnung der Hefe | Stammwürze Proz. Ball. | Extrakt Proz. Ball. | | Alkohol Proz. | Vergärungsgrad | |
|------------------------|---------------------------|------------------------|----------|------------------|--------------------|-------------------|
| | | scheinbar | wirklich | | scheinbar Proz. | wirklich Proz. |
| Obergärige Hefe Rio | 10,0 | 3,32 | 4,60 | 2,77 | 66,8 | 54,0 |
| " " 25 | 10,0 | 4,50 | 5,55 | 2,30 | 55,0 | 44,5 |
| " " 170 | 10,0 | 3,35 | 4,65 | 2,70 | 66,5 | 53,5 |
| Untergärige " Frohberg | 10,0 | 3,32 | 4,65 | 2,75 | 66,8 | 53,5 |
| " " Saaz | 10,0 | 4,35 | 5,52 | 2,33 | 56,5 | 44,8 |

niedrigvergärend, dagegen die Stämme 2 und 93 hochvergärend; Stamm 6 nimmt eine mittlere Stellung ein.

Hinsichtlich ihres Verhaltens gegenüber den chemisch reinen Zuckerarten besteht nach den bisherigen Untersuchungen zwischen obergärigen und untergärigen Bierhefen ein markanter Unterschied: die letzteren vergären Raffinose (Melitriose) vollständig, die ersteren nur teilweise. Dieser zuerst von D. Loiseau¹⁾ und dann von A. Bau²⁾ angegebene Unterschied soll darauf beruhen, daß den obergärigen Hefen ein Enzym, die Melibiase, fehlt, welches in den untergärigen Hefen vorhanden ist und die Melibiose in die direkt vergärbaren Komponenten Dextrose und Galaktose spaltet. Die Melitriose wird zwar bei beiden Hefegruppen durch das Invertin in Melibiose und Fruktose gespalten, welche letztere direkt vergoren wird. Die Melibiose dagegen wird nur von den untergärigen Hefen vergoren, von den obergärigen wird sie infolge des Mangels an Melibiase nicht zerlegt und infolgedessen auch nicht vergoren. Dieser Unterschied zwischen obergärigen und untergärigen Hefen, den A. Bau sehr eingehend studiert hat, erlitt zwar durch seine eigenen Untersuchungen^{3) 4)}, dann durch die Arbeiten von P. Lindner⁵⁾ und J. Schukow⁶⁾ eine gewisse Einschränkung in seiner fundamentalen Bedeutung; besonders den untergärigen Arten unter den Weinhefen, aber auch einigen wenigen untergärigen Bierhefen fehlt das Vermögen, Melitriose vollständig zu vergären, während andererseits einige obergärige Hefen bekannt sind, welche dieses Vermögen besitzen. Trotzdem erschien es durchaus angezeigt, die drei obergärigen Bierhefen Rio, 25 und 170 auf ihr Verhalten gegen Melitriose zu prüfen.

Zu diesem Zweck wurden 3 g chemisch reiner Melitriose in 100 g Hefewasser gelöst; diese Lösung wurde in Portionen zu 10 ccm in Freudenreich-Kölbchen sterilisiert, die sterilen Kölbchen wurden mit je einer Platinöse frischer Hefe geimpft und 8 Tage bei 25° im Thermostaten der Gärung überlassen. Der nach der Sterilisation pyknometrisch bestimmte Extraktgehalt des Melitriosehefewassers war 3,32

1) Loiseau, D., Ueber die Vergärung der Raffinose durch verschiedene Hefearten. (Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. 1889. p. 483.)

2) Bau, A., Ueber das Verhalten der Oberhefe gegenüber Isomaltose und Raffinose. (Wochenschr. f. Brauerei. 1894. p. 113.)

3) Bau, A., Das Enzym Melibiase, sowie vergleichende Studien über Multase, Invertase und Zymase. (Wochenschrift f. Brauerei. 1903. p. 560.)

4) Bau, A., Beiträge zur Vergärbarkeit und analytischen Verwertung der Melitriose. (Wochenschr. f. Brauerei. 1898. p. 398.)

5) Lindner, B., Gärversuche mit verschiedenen Hefe- und Zuckerarten. (Wochenschrift f. Brauerei. 1900. p. 746.)

6) Schukow, J., Ueber reine Weinhefen. (Wochenschr. f. Brauerei. 1899. p. 195.)

Proz. Ball., so daß also 0,32 Proz. für den Extrakt des Hefewassers anzunehmen sind. Zur Prüfung kamen außer den drei obergärigen Hefen noch als Kontrollhefen die untergärigen Stämme Froberg und Saaz.

Nach der Gärung wurde in jedem Kölbchen das spezifische Gewicht der vergorenen Nährlösung sowie die Kupfermenge bestimmt, welche durch 10 ccm der letzteren nach 2 Minuten langem Kochen aus 50 ccm Fehlingscher Lösung reduziert wurde. Aus dem durch das spezifische Gewicht gegebenen scheinbaren Extraktgehalt wurde der wirkliche nach der Ballingschen Formel berechnet. Der kleine Fehler, der sich naturgemäß bei der Berechnung ergibt, dürfte für den Zweck der vorliegenden Versuche wohl nicht in Betracht kommen. In folgender Tabelle sind die erhaltenen Resultate der Untersuchung zusammengestellt; die Zahlen stellen Durchschnittswerte aus Parallelversuchen dar.

| Bezeichnung der Hefe | Spez. Gewicht des Melitriose-hefewassers | Extrakt des Melitriose-hefewassers | | Von der Melitriose vergoren Proz. | Kupfer-reduktion Reduziertes Cu in g | |
|----------------------|--|------------------------------------|----------------------|--------------------------------------|---|--------|
| | | scheinbar Proz. B. | wirklich Proz. B. | | | |
| ohne Hefe | 1,0133 | — | 3,32 | — | — | |
| Vergoren mit | Oberhefe Rio | 1,0068 | 1,70 | 1,94 | 35,3 | 0,2640 |
| | " 25 | 1,0072 | 1,80 | 2,04 | 32,0 | 0,2840 |
| | " 170 | 1,0068 | 1,70 | 1,94 | 35,3 | 0,2670 |
| | Untergär. Hefe Froberg | 0,9945 | — | — | 100,0 | — |
| | " " Saaz | 1,0002 | 0,05 | — | fast 100,0 | Spuren |

Diese Versuche ergeben also, unter der Annahme, daß der 0,32 Proz. betragende Extrakt des Hefewassers vollständig verbraucht wurde, daß die drei obergärigen Bierhefen etwa nur ein Drittel des ursprünglichen Gehaltes an Melitriose vergoren hatten, dagegen hat die untergärige Hefe Froberg die Melitriose ganz, die untergärige Hefe Saaz bis auf einige Spuren vergoren. Diese Resultate werden auch durch das Reduktionsvermögen der vergorenen Nährlösung gegenüber Fehlingscher Lösung bestätigt. Die erhaltenen Zahlen stimmen mit den von Bau angegebenen gut überein.

Es ist also im vorliegenden Falle das Verhalten der drei obergärigen Bierhefen gegen Melitriose tatsächlich ein sehr sicheres Unterscheidungsmerkmal gegenüber untergärigen Bierhefen. Zwischen den drei Oberhefen selbst sind die Unterschiede in der Vergärung von Melitriose sehr gering; bemerkenswert wäre höchstens, daß auch hier wieder Oberhefe 25 eine etwas schwächere Vergärung aufweist.

Es wäre gewiß sehr interessant gewesen, auch das Verhalten der drei obergärigen Bierhefen gegen andere Kohlehydrate u. s. w. zu prüfen. Ausgedehntere Untersuchungen zur Physiologie und Biologie der drei Hefen lagen jedoch zunächst nicht innerhalb des gesteckten Zieles; sie bleiben anderer Seite vorbehalten. Einer Reihe von Versuchen würde man von vornherein überhoben gewesen sein, da schon Will die drei Hefen zu den verschiedensten Untersuchungen benützt hat. So wurden sie bei den „Studien über Proteolyse durch Hefen“¹⁾ eingehend hinsichtlich ihrer Fähigkeit, Gelatine zu verflüssigen, mit zahlreichen anderen

1) Will, H., Studien über die Proteolyse durch Hefen. (Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. 1898. p. 127 und 1901, p. 113.)

Hefen vergleichend geprüft. Beobachtungen über die Widerstandsfähigkeit der Oberhefe Rio im trockenen Zustand (Hefekonserven No. 1) wurden bei den Versuchen über die Lebensdauer getrockneter Hefe¹⁾ angestellt. Biologische Beobachtungen stellte er auch an den beiden Oberhefen 25 und 170 bei den Untersuchungen über das Verhalten gegenüber Maltol²⁾ und Furfurol³⁾ an. Oberhefe 25 diente als Versuchsobjekt bei den zahlreichen von Will ausgeführten Untersuchungen über die Wirkung von Desinfektionsmitteln⁴⁾ auf Hefe, wobei auch an einer Versuchsreihe der Unterschied in der Widerstandsfähigkeit der vegetativen Zellen und der Sporen bei Hefe 25 geprüft wurde. Oberhefe 25 und 170 sind endlich auch bei den Studien über Gerbstoffreaktionen an Hefezellen⁵⁾ benützt worden.

VII. Zusammenstellung der erhaltenen Resultate.

Nachdem die vergleichenden Untersuchungen an drei obergärigen Bierhefen wenigstens zu einem vorläufigen Abschluß gekommen sind, möge im folgenden noch ein kurzer Rückblick auf die in den einzelnen Abschnitten erhaltenen Resultate gegeben und die sich aus diesen ergebenden Schlüsse für die Charakterisierung der obergärigen Bierhefen zusammengefaßt werden.

Die drei obergärigen Bierhefen Rio, 25 und 170 lassen sich in Reinkulturen nach ihren charakteristischen Zellformen durch die mikroskopische Untersuchung der Bodensatzhefe wohl unterscheiden, wie dies auch für viele untergärige Bierhefen zutrifft. Auch der äußere Verlauf der Gärung (Intensität der Kohlensäureentwicklung, Schaumdecke) ist bei den drei obergärigen Hefen verschieden, im allgemeinen jedoch durch raschere Angärung und hefereichere Schaumdecken gegenüber den untergärigen Hefen ausgezeichnet. Die Maxima und Minima der Temperatur für die Gärung und Sprossung liegen im großen und ganzen fast ebenso wie für untergärige Hefen, dagegen liegen die Optimaltemperaturen ziemlich höher.

Die Bildung von Endosporen erfolgt für die beiden Hefen Rio und 25 bedeutend früher als für die überwiegende Mehrzahl der untergärigen Bierhefen, nur Oberhefe 170 nähert sich in dieser Beziehung den letzteren. Die drei Kardinalpunkte der Temperatur für die Sporenbildung geben sehr gute Merkmale für die Unterscheidung der drei untersuchten Oberhefen untereinander ab. Auch hier liegt die Optimaltemperatur für die obergärigen Bierhefen im allgemeinen etwas höher als für untergärige Arten. Das Hansensche Gesetz, daß die Temperaturgrenzen für die Sporenbildung innerhalb derjenigen für die Sprossung liegen, trifft auch für die untersuchten drei Oberhefen zu.

Die Hautbildung vollzieht sich genau nach den gleichen Entwicklungsgesetzen, wie sie von Will für die untergärigen Bierhefen festgestellt wurden.

1) Will, H., Einige Beobachtungen über die Lebensdauer getrockneter Hefen. (Zeitschrift f. d. gesamte Brauwesen. 1896. p. 453.)

2) Will, H., Maltol, ein schwaches Hefegift. (Ibid. 1898. p. 307.)

3) Will, H., Furfurol und Hefe. (Ibid. 1902. p. 33.)

4) Will, H., Ueber die Wirkung einiger Desinfektionsmittel auf Hefe. (Ibid. 1893. p. 151; 1894. p. 43; 1902. p. 113; 1904. p. 521; 1905. p. 329.)

5) Will, H., Gerbstoffreaktionen an Hefezellen und deren Beimengungen aus gehopfter Würze. (Ibid. 1900. p. 325.)

Auch bei den obergärigen Bierhefen entwickeln sich aus den durch die Ausscheidungen der Schaumdecke an der Oberfläche der Nährlösung festgehaltenen Zellen der Bodensatzform typische kleine Zellen, die oft in größerer Anzahl aus der gleichen Mutterzelle hervorsprossen. Bald nach Beginn der Hautbildung treten diese Zellen auch in gestreckterer Form und in großen Sproßverbänden auf, eine Erscheinung, die gerade bei den obergärigen Hefen sehr prägnant zum Ausdruck kommt.

Die Häute sind im allgemeinen bei den obergärigen Bierhefen sehr stark entwickelt. Mit ihrer Ausbildung geht meist auch die Bildung eines starken Heferinges Hand in Hand. Das Fehlen bzw. der sehr geringe Umfang desselben ist für Oberhefe 25 sehr charakteristisch.

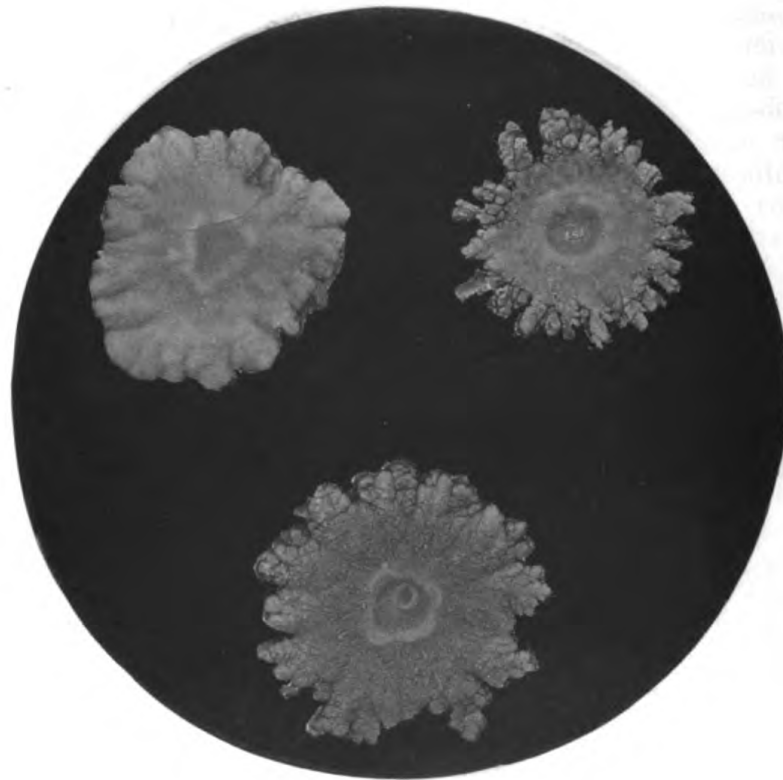
Im weiteren Verlaufe der Hautentwicklung treten ebenso wie bei den untergärigen Bierhefen Zellen auf, welche durch ihre verdickte Membran und Aufspeicherung von Reservestoffen (Oel und teilweise auch Glykogen) sich als „Dauerzellen“ (Chlamydosporen) erweisen. Diese Dauerzellen werden besonders von der Oberhefe Rio sehr frühzeitig und reichlich ausgebildet, bei der Oberhefe 170 erscheinen sie erst spät und ziemlich selten. Diese Dauerzellen sind die Mutterzellen für die 2. Generation der Hautzellen, welche aus großen Sproßverbänden langgestreckter derber Zellen besteht, deren Form zur Unterscheidung der drei Hefen dienen kann. Die Hautbildung erfolgt also auch bei den obergärigen Bierhefen in zwei Entwicklungsphasen, deren zweite, welche durch die langgestreckten derben Zellen der 2. Hautgeneration charakterisiert ist, bei den drei Oberhefen erst spät und in geringem Maße zum Ausdruck kam.

Die Schnelligkeit der Hautbildung ist bei den drei obergärigen Bierhefen durchweg größer als sie für untergärige Arten bekannt ist. Die drei Kardinalpunkte der Temperatur für die Hautbildung sind auch bei den drei obergärigen Hefen ein gutes Unterscheidungsmerkmal, im allgemeinen liegen auch sie höher als bei den in dieser Beziehung untersuchten untergärigen Bierhefen.

Das Wachstum der Bodensatzform der drei obergärigen Hefen in Einzellkolonien auf festem Nährsubstrat (Würzgelatine) scheint ein gutes Unterscheidungsmerkmal gegenüber der Mehrzahl von untergärigen Arten der Bierhefe zu bilden, wenigstens konnte im Verlaufe der vorliegenden Untersuchungen das Wachstum der Einzellkolonien in „Maulbeerform“ (Typus I nach Will), das den meisten untergärigen Bierhefen eigentümlich ist, bei den drei obergärigen Hefen nicht beobachtet werden. Zur gegenseitigen Unterscheidung der drei Hefen kann die Wachstumsform in Einzellkolonien nur in sehr beschränktem Maße verwendet werden.

Das Studium der Entwicklung und des anatomischen Baues der Riesenkolonien auf Würzgelatine förderte zahlreiche markante Unterschiede zwischen den drei obergärigen Bierhefen, besonders zwischen Oberhefe Rio und 170 einerseits und Oberhefe 25 andererseits zu Tage. Auch ermöglichte es aufs neue den Beweis für die Richtigkeit der Will'schen Theorie von der Analogie der Riesenkolonien auf festem und der Hautbildungen auf flüssigem Nährsubstrat zu erbringen. Die Entwicklung der Riesenkolonien erfolgt bei den drei obergärigen Bierhefen nach den nämlichen Grundsätzen, die Will für seine untergärigen Hefearten festgestellt hat, allerdings kommt die zweite Entwicklungsphase der Riesenkolonien auf Würzgelatine nicht zu vollem Ausdruck. Auch bezüglich des anatomischen Baues der Riesenkolonien herrscht zwischen obergärigen und untergärigen Bierhefen fast

Regensburger. Drei obergärige Arten von Bierhefe.



1



2

völlige Uebereinstimmung, lediglich das von Will bei seinen untergärigen Hefen nie beobachtete Auftreten von Dauerzellen innerhalb der Ströme der ausgewachsenen Riesenkolonieen deutet auf einen Unterschied zwischen obergärigen und untergärigen Bierhefen hinsichtlich des Aufbaues ihrer Riesenkolonieen hin.

Die Untersuchungen über das chemisch-physiologische Verhalten der drei obergärigen Hefen, besonders gegenüber den Kohlehydraten der Bierwürze (Vergärungsgrad) ergaben auch beträchtliche Verschiedenheiten zwischen den drei obergärigen Hefen. Das Verhalten gegen Melitriose, das bekannteste Mittel zur Differenzierung von obergäriger und untergäriger Bierhefe auf chemisch-physiologischem Wege, ließ auch im vorliegenden Fall einen prägnanten Unterschied zwischen den zwei verschiedenen Hefegruppen erkennen.

Im allgemeinen kann aus den vorliegenden Untersuchungen wohl geschlossen werden, daß unter den obergärigen ebenso wie unter den untergärigen Bierhefen verschiedene Arten oder Rassen existieren, die durch morphologische und entwicklungsgeschichtliche Momente und nicht zuletzt auch durch bestimmte physiologische Eigenschaften in scharfem Gegensatz zueinander stehen.

Gegenüber den untergärigen Arten von Bierhefe, mit denen sie hinsichtlich ihrer Gesamtnatur fast vollständige Analogie aufweisen, sind sie lediglich durch größere Schnelligkeit und Intensität des Wachstums, der Sprossung, der Sporen- und Hautbildung ausgezeichnet, wenn auch in dem einen oder anderen dieser Punkte Abweichungen vorkommen können. Dazu kommen als weitere unterscheidende Kriterien der sparrige Wuchs der Sproßverbände, der sich auch in der Wachstumsform der Einzelkolonieen auf festem Nährsubstrat äußert, und endlich der wohl in den allermeisten Fällen zu konstatierende Mangel an dem Melibiose spaltenden Enzym Melibiase bei den obergärigen Bierhefen.

Erklärung der Tafeln.

Links oben: Oberhefe 25. Mitte unten: Oberhefe Rio. Rechts oben: Oberhefe 170.

Tafel I.

Fig. 1. Riesenkolonieen der drei Hefen bei 20° nach 48 Stunden

Fig. 2. " " " " " 10—12° " 4 Tagen

Fig. 3. " " " " " 20° " 4 "

Sämtliche auf 10-proz. Würzegeleatine.

Fig. 4. Riesenkolonieen der drei Hefen bei 10—12° nach 8 Tagen auf 16-proz. Würzegeleatine.

Sämtliche Figuren in natürlicher Größe.

Tafel II.

Fig. 1. Riesenkolonieen der drei Hefen nach 15 Tagen

Fig. 2. " " " " " ca. 2 Monaten

Tafel III.

Fig. 1. Riesenkolonieen der drei Hefen nach ca. 5 Monaten.

Sämtliche auf 10-proz. Würzegeleatine.

Fig. 2. Rhizoiden der Riesenkolonieen der drei Hefen nach 2—3 Wochen.

Sämtliche Figuren in ca. 1½-facher Vergrößerung.

Nachdruck verboten.

Ueber den Einfluss der Metalle auf gärende Flüssigkeiten.

[IV. Mitteilung.]

Von **Leopold Nathan**, Zürich, unter Mitwirkung von **Arthur Schmid**.
(Referent **Willy Fuchs**.)

Mit 1 Figur und 2 Kurven.

D. Trübungsversuche mit fertigem Biere.

Wenn ich bisher die während der Gärung entstehenden Trübungen untersucht hatte, so waren die bei Metallberührung im fertigen Bier auftretenden Erscheinungen nicht minder wichtig. Jedem Brauer ist ja bekannt, daß bei Anwendung eines neuen Filters in Hinsicht auf Klarheit und Geschmack des Bieres nicht unerhebliche Schwierigkeiten entstehen, die sich auch nach weiterem Gebrauch des Filters je nach dessen Behandlung wieder neu einstellen können. Diese schweren Trübungen, welche nichts anderes als Eiweißfällungen sind, werden sehr gefürchtet, da sie fast gar nicht zu entfernen sind. Ebenso bekannt ist das Auftreten des Tintengeschmacks und der schwarzen Farbe im Biere, wenn dasselbe mit einer freiliegenden eisernen Spundlochbüchse in Berührung kommt. Darum habe ich meine vergleichenden Untersuchungen der verschiedensten Metalle, einzeln und kombiniert, wie sie in Filtern etc. vorkommen, auch auf fertige Biere ausgedehnt.

Versuchsflüssigkeit war ein glanzhelles, leichtes, etwas bitteres Bier aus der Aktienbrauerei Zürich. Dieses wurde in kleine sterile Gärflaschen von je 1 Liter Inhalt abgefüllt, fest verschlossen und im Halbdunkel bei 8° C aufbewahrt.

Diese Versuchsreihe zeitigte zwar bemerkenswerte empirische Resultate, doch fehlten die Methoden, auf Grund deren man hätte die einzelnen Trübungsgrade rasch und exakt miteinander vergleichen können. Auch zeigten mit CO₂ vorgefüllte Flaschen ein wesentlich anderes Verhalten als die, welche mit Luft gefüllt waren.

Deshalb wird diese Versuchsreihe nur im Anhang auszugsweise angeführt werden.

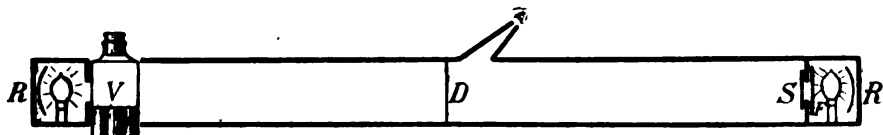
In der folgenden Reihe aber wurde nach vielfachen, mühevollen und zeitraubenden Versuchen eine Methodik geschaffen, die leicht und sicher Resultate von einer Genauigkeit liefert, welche bis an die Grenzen der bei gleichartigen Versuchen auftretenden Schwankungen heranreicht.

Die Ueberlegungen, welche zu der weiter unten angeführten Methodik leiteten, gingen davon aus, daß das Bier neben den Eiweißausscheidungen auch eine Farbänderung durchmachte. Von diesen beiden Funktionen gemeinsam ist die empirische Beobachtung abhängig und liefert, da sie dieselben nicht auflösen kann, häufig ein ungenaues Bild. Ich habe nun diese beiden Funktionen getrennt und fast unabhängig voneinander bestimmt. Für die Farbtiefe wurden abermals die Wiener Vereinbarungen zu Grunde gelegt, wobei zu erinnern ist, daß No. 1—5 von den hellsten bis zu den noch als hell zu bezeichnenden Bieren geht. Der Trübungsgrad wurde mit einer Art Photometer bestimmt, dessen entgültige Form in der unten stehenden Skizze vorliegt. Der Apparat besteht aus einem langen Kasten, an dessen beiden Enden Reflektoren *R* und *R'* das Licht zweier gleich starker Glühlampen durch die auf ihren Trübungsgrad zu

prüfende Flüssigkeit V einerseits und durch eine dieser an Farbtiefe gleichen gelben Glasscheibe oder Flüssigkeitssäule F andererseits auf das in der Mitte angebrachte Fettfleck-Diaphragma D werfen.

Zur Kompensation des Lichtüberschusses auf der rechten Seite dient der Schieber S mit 25 runden Oeffnungen von 1—625 qmm Fläche, welche die Quadrate der Zahlenreihe darstellen, gemäß dem Gesetze von der Beleuchtungsstärke einer Fläche, welche im umgekehrten Verhältnis des Quadrates ihrer Entfernung von der Lichtquelle steht. Bei der Messung wird dieser Schieber so lange verstellt, bis der Fettfleck des Diaphragmas nicht mehr zu sehen ist, worauf der Grad der Trübung an der Skala des Schiebers abgelesen wird; auf dieser Skala bedeutet O „glanzhell“, entsprechend der vollen Lichtöffnung der Scheidewand vor S von 676 qmm bei ganz herausgezogenem Schieber S , 25 dagegen „vollständige Trübung“ bei der eingestellten kleinsten Oeffnung von S .

Bei Beginn der Versuche wird die Lichtstärke der hintereinandergeschalteten Glühlampen durch entsprechende Widerstände gleichgestellt und die Versuche in Flaschen mit planparallelen Wänden von 8,5 cm Abstand werden gleich nach dem Einsetzen der Metallcylinder auf ihre Durchlässigkeit geprüft. Ist die Flasche glanzhell und das Glas der Versuchsflasche rein und ist die entsprechende Farbscheibe des Schiebers F eingeschoben, so wird von beiden Seiten das gleiche Licht auf das Diaphragma fallen, wenn der Blendschieber S herausgezogen ist — der Trübungsgrad (an der Skala von S direkt ablesbar) ist O . Die kleinste Trübung, die das Auge noch nicht bestimmt wahrnimmt, wird bald eine der ersten Oeffnungen des Schiebers S zum Lichtausgleich erfordern.



Der wichtigste Punkt bei den Trübungsmessungen ist die Auswahl der passenden Gelbscheibe des Schiebers F , weil die Tiefe der Farbe die Durchlässigkeit für die Lichtstrahlen stark beeinflusst und auch bei verschieden farbigem Licht der Fettfleck von D nicht verschwindet. Genauer als die Verwendung der Farbgläser ist das Einsetzen gleicher Flaschen wie V auch auf der rechten Seite, gefüllt mit einer Farblösung aus einer Skala, mit der man auch die Farbtiefe bzw. die Entfärbung der Versuche bestimmt. Dies geschieht jedesmal vor dem Aufschütteln der am Boden der Flaschen um die Metallcylinder lagernden Ausfällungen.

Die mechanisch gut gereinigten Metallcylinder von je 160 qcm Oberfläche wurden mit Wasser, Alkohol und Aether gewaschen, abgetrocknet und zu zweit, bzw. dritt in die rechteckigen Literflaschen gebracht, diese mit Gummiverschluß versehen, und mit Alkohol gründlich gespült, darauf mit CO_2 vorgefüllt. Die so vorbereiteten Flaschen wurden mit sehr stark gekühltem hellen Bier aus der Aktienbrauerei Zürich bis fast zum Hals aufgefüllt und die Verschlüsse aufgebunden. Das schwach gehopfte, wenig ausgereifte Bier wog 4,5 Proz. Balling und enthielt 3,23 Proz. (4,07 Vol.-Proz.) Alkohol, sowie 5,6 Proz. Extrakt, genügend Kohlensäure und deckte No. 1½ der Farbskala.

Die Flaschen waren folgendermaßen beschickt:

| No. | 1 | 2 | Cylinder | Sn | | | |
|-----|----|---|----------|-----------------------------|----------|----|----|
| " | 2 | 2 | " | Zn | | | |
| " | 3 | 2 | " | Pb | | | |
| " | 4 | 2 | " | Al | | | |
| " | 5 | 2 | " | Cu | | | |
| " | 6 | 2 | " | Ag | | | |
| " | 7 | 2 | " | Au | | | |
| " | 8 | 2 | " | Ni | | | |
| " | 9 | 2 | " | Nickelstahl | | | |
| " | 10 | 2 | " | Nickelplattierter Flußstahl | | | |
| " | 11 | 2 | " | Bronze | | | |
| " | 12 | 2 | " | Al-Bronze | | | |
| " | 13 | 2 | " | Messing | | | |
| " | 14 | 2 | " | Glas | | | |
| " | 15 | 1 | " | Sn und 1 | Cylinder | Zn | |
| " | 16 | 1 | " | Sn | " 1 | " | Pb |
| " | 17 | 1 | " | Sn | " 1 | " | Al |
| " | 18 | 1 | " | Sn | " 1 | " | Cu |
| " | 19 | 1 | " | Zn | " 1 | " | Cu |
| " | 20 | 1 | " | Al | " 1 | " | Cu |
| " | 21 | 1 | " | Ni | " 1 | " | Cu |
| " | 22 | 2 | " | Fe | | | |
| " | 23 | 1 | " | Fe | " 1 | " | Cu |
| " | 24 | 2 | " | Sn | " 1 | " | Zn |
| " | 25 | 1 | " | Sn | " 2 | " | Zn |
| " | 26 | 1 | " | Sn | " 2 | " | Cu |
| " | 27 | 2 | " | Weißblech | | | |

Die Versuchstemperatur bewegte sich zwischen 13 und 15° Celsius. Für die Farbe des Versuchsbieres (1,5° Wiener Vereinbarungen) war die Lichtstärke von 5 N. K. der Glühlampen so gewählt, daß sie ein sehr stark getrübbtes Bier in der Schichtdicke von 8,5 cm gerade nicht mehr zu durchdringen vermochte.

Die Messungen der Farbtiefe und der Trübungen erfolgten nach 1, 20, 26, 44, 50, 68, 74 und 96 Stunden. Die Dezimalen sind näherungsweise bestimmt.

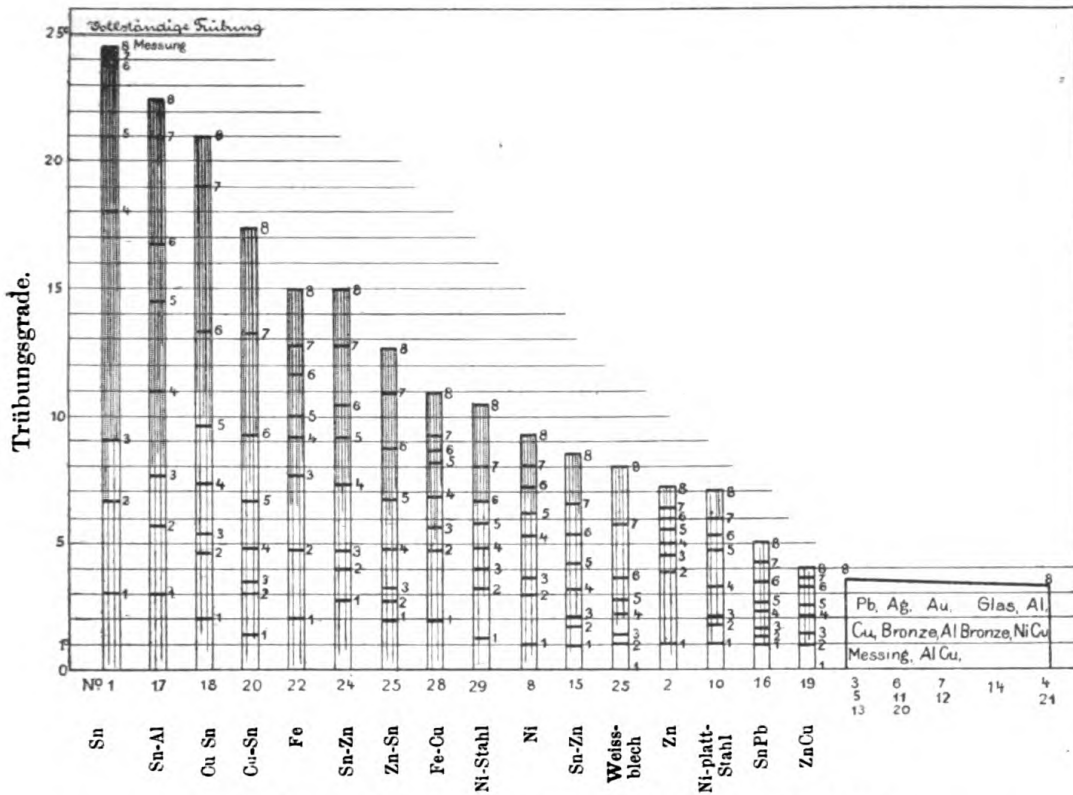
Aus der folgenden Tabelle ist die zunehmende Wirkung deutlich zu verfolgen.

(Siehe Tabelle p. 485.)

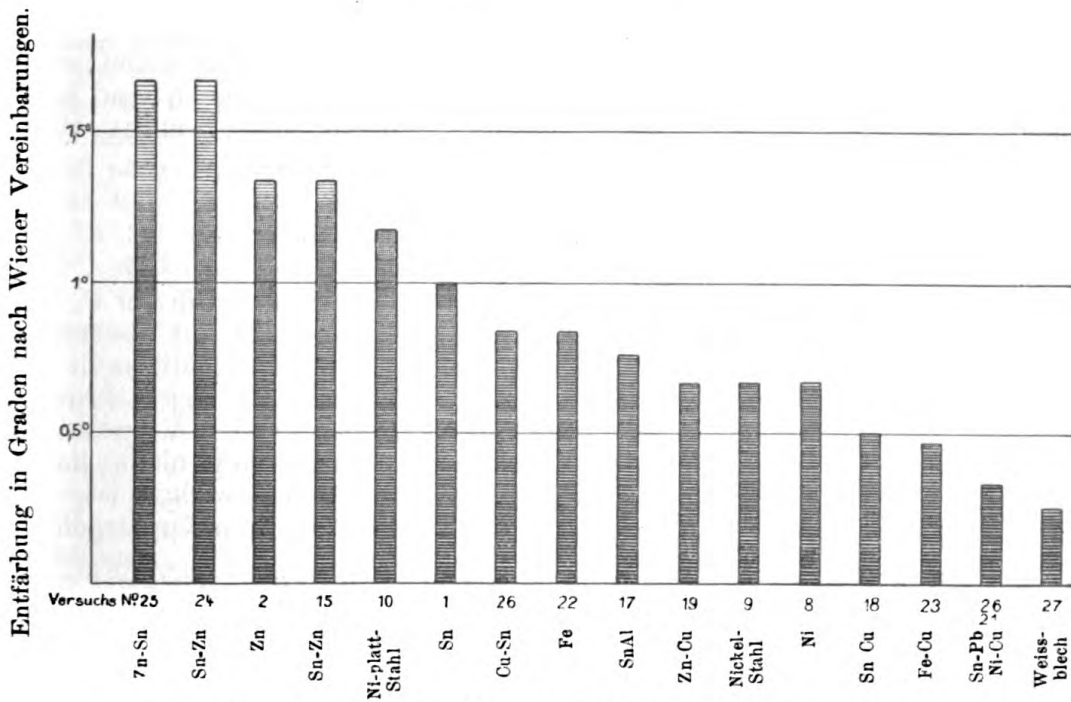
Neben dem Trübungsgrad am 4. Tag (96 Stunden) wurde die Anzahl der Grade nach Wiener Vereinbarungen, um die sich das Bier aufgehellt hatte, gesetzt. Da diese aber vielfach unter 1,00 lagen, so wurde bei jeder Zahl 1 addiert; diese einfache Aenderung gestattet, den Trübungsgrad mit dem Farbgrad zu multiplizieren, aus welcher Ziffer direkt und zuverlässig auf die Wirkung des Metalles geschlossen werden darf. Bei Zugrundelegung des Produktes der Flasche mit den Glaszylindern (Versuch 14—3,2) hat man einen auch absolut gültigen Maßstab gewonnen.

Die einzelnen Metalle, Legierungen und Metallpaare ordnen sich demnach in folgender von den giftigsten zu den weniger schädlichen abfallenden Reihe:

Sn, Sn + Al, Sn + Cu, Fe, Sn + Zn, Nistahl, Zn, Fe + Cu, Ni, Niplattierter Flußstahl, Weißblech, Sn + Pb, Zn + Cu, Ni + Cu.



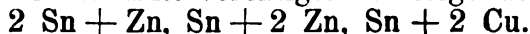
Kurve 1. Einfluß der Metalle auf fertiges Bier.
Photometrisch gemessener Trübungsgrad nach 1, 20, 26, 44, 50, 68, 74, 96 Stunden.
Messung No. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8.



Kurve 2. Einfluß der Metalle auf fertiges Bier.
Entfärbung nach 96 Stunden.

| Nach Stunden: | 1 | 20 | 26 | 44 | 50 | 68 | 74 | 96 | Farbtiefe- abnahme + 1 | Produkt |
|---------------|-----|-----|-----|-----|------|------|------|------|------------------------------|---------|
| Versuch No. 1 | 3 | 6,7 | 9 | 18 | 21 | 24 | 24,2 | 24,5 | 2 | 49 |
| 2 | 1 | 4 | 4,5 | 5 | 5,5 | 6 | 6,2 | 7,3 | 2,33 | 17 |
| 3 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1,2 | 2,2 | 2,4 | 3,5 | 1 | 3,5 |
| 4 | 0 | 0 | 1 | 1,3 | 1,5 | 2,2 | 2,3 | 3,1 | 1 | 3,1 |
| 5 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1,3 | 2,3 | 2,5 | 3,5 | 1 | 3,5 |
| 6 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1,2 | 2 | 2,3 | 3,4 | 1 | 3,4 |
| 7 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1,2 | 1,9 | 2,2 | 3,3 | 1 | 3,3 |
| 8 | 1 | 3 | 3,5 | 5,4 | 6,2 | 7,2 | 8 | 9,3 | 1,65 | 15,3 |
| 9 | 1,2 | 3,2 | 4 | 4,8 | 5,8 | 6,7 | 8 | 10,5 | 1,65 | 17,3 |
| 10 | 1 | 1,8 | 2 | 3,3 | 4,8 | 5,4 | 6 | 7 | 2,16 | 15,1 |
| 11 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1,3 | 2,2 | 2,4 | 3,4 | 1 | 3,4 |
| 12 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1,2 | 2,1 | 2,3 | 3,3 | 1 | 3,3 |
| 13 | 0 | 0 | 1 | 1,6 | 1,8 | 2,5 | 2,7 | 3,5 | 1 | 3,5 |
| 14 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1,2 | 2 | 2,2 | 3,2 | 1 | 3,2 |
| 15 | 1 | 1,8 | 2 | 3,2 | 4,2 | 5,4 | 6,7 | 8,7 | 2,33 | 20,3 |
| 16 | 1 | 1,4 | 1,6 | 2,4 | 2,6 | 3,4 | 4,2 | 5 | 1,32 | 6,6 |
| 17 | 3 | 7,7 | 7,7 | 11 | 14,4 | 16,8 | 21 | 22,5 | 1,75 | 39,4 |
| 18 | 2 | 4,6 | 5,4 | 7,3 | 9,7 | 13,2 | 19 | 21 | 1,5 | 31,5 |
| 19 | 0 | 1 | 1,3 | 2,1 | 2,4 | 3,3 | 3,5 | 4 | 1,65 | 6,6 |
| 20 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1,4 | 2,2 | 2,4 | 3,4 | 1 | 3,4 |
| 21 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1,3 | 2,2 | 2,4 | 3,1 | 1,32 | 4,1 |
| 22 | 2 | 4,8 | 7,7 | 9,3 | 10 | 11,7 | 12,8 | 15 | 1,83 | 27,5 |
| 23 | 2 | 4,8 | 5,7 | 6,9 | 8,1 | 8,8 | 9,3 | 11 | 1,45 | 16 |
| 24 | 2,8 | 4 | 4,8 | 7,3 | 9,2 | 10,5 | 12,8 | 15 | 2,65 | 39,8 |
| 25 | 2 | 2,8 | 3,2 | 4,8 | 6,7 | 8,7 | 11 | 12,8 | 2,65 | 33,9 |
| 26 | 1,5 | 3 | 3,5 | 4,9 | 6,7 | 9,3 | 13,2 | 17,3 | 1,83 | 31,7 |
| 27 | 0 | 1 | 1,3 | 2,2 | 2,5 | 3,5 | 5,8 | 8 | 1,25 | 10 |

Die zu dritt vereinigten in folgender Reihe:



Zwei Kriterien zur endlichen Urteilsfällung verdienen noch angeführt zu werden: Geschmacksprobe und Nachweis gelöster Metalle.

Geschmacksprobe (4. Tag): Nur Pb hatte dem Bier einen stark metallischen fremden Beigeschmack mitgeteilt; im allgemeinen sind keine deutlichen Veränderungen bemerkbar, die Bittere scheint etwas abgenommen zu haben (Metall-Hopfenharzausscheidungen).

Nachweis gelöster Metalle:

Auf Fe positiv in No. 10, 22, 23, 27, negativ in No. 9;

„ Ni „ „ „ 10;

alle anderen Reaktionen sind negativ; dies stimmt mit der in der 2. Mitteilung angeführten Verschiedenheit der gelösten Mengen gut überein.

Ich verweise hier ausdrücklich auf die eminente Schädlichkeit des Zinns, das allgemein als Ueberzug der Metallteile in den Gärungsindustrien und selbst in den physiologischen Laboratorien Verwendung findet. In allen Versuchen, bei welchem die Schädigung einen hohen Grad erreicht hat, war das Zinn beteiligt. Besonders wichtig ist, daß Cu + Sn, die meist verwendete Form der Praxis (verzinnete Kupfergefäße) bereits an dritter Stelle steht.

Eine genaue Aufzählung aller Metalle in ihrer Reihenfolge ist insofern überflüssig, als sie leicht aus der vorstehenden Tabelle entnommen werden kann.

Ich greife noch kurz auf die eingangs erwähnte Versuchsreihe zurück. Hier waren die Flaschen nicht mit CO₂ vorgefüllt worden und es zeigte sich ein typischer Unterschied gegenüber den mit CO₂ vorgefüllten

Flaschen der letzten Versuchsreihe, der darin bestand, daß erstere sich meistens in ganz bedeutend kürzerer Zeit trübten. Der Unterschied ist höchst wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß unter dem Einfluß des O der Luft die Metalle stärker angegriffen werden.

Während bei den letzten Versuchen 20 Stunden nach dem Abfüllen mit freiem Auge noch nicht die geringste Trübung wahrzunehmen war, zeigten in der vorletzten Versuchsreihe Sn + Fe schon nach 5 Stunden Trübung, nach 24 Stunden aber waren Weißblech, 2 Sn + Zn, Britannia ganz milchig, Sn, Sn + 2 Zn, Cu, Messing, Sn + Zn und Fe leicht getrübt. Flaschen mit Fe und Sn waren bereits deutlich entfärbt.

Schätzungsweise bestimmte Trübungsgrade ergaben, daß alle Versuche mit Sn, Sn + Zn, Fe, Pb, Weißblech, Messing, Zn + Cu und Cu in der Trübung den Versuchen der letzten Reihe vorauseilten, Sn + Cu ihr ebenso wie die meisten übrigen Metalle gleichblieben und nur Ni und Nistahl etwas zurückblieben. Ich betone aber ausdrücklich, daß diese Reihe ohne Ausnahme der letzten parallelgehende Resultate in Bezug auf die einzelnen Metalle zeigt.

Aus den in dieser und in den vorhergehenden Mitteilungen veröffentlichten Versuchsreihen ergibt sich eine wohldefinierte Abstufung für die Schädlichkeit der Metalle; wenn diese auch unter dem Einfluß wechselnder Bedingungen, wie sie die verschiedenen industriellen und physiologischen Gärungen mit sich bringen, kleinen Schwankungen zwischen benachbarten Gliedern unterworfen ist, so bleibt die relative Stellung der entfernteren Glieder zueinander immer die gleiche und man kann sehr wohl von einer Gesetzmäßigkeit der Giftwirkung der einzelnen Metalle sprechen.

Das Gesagte genügt, um die falsche Richtung, die die Entwicklung der Apparate der Gärungsgewerbe verfolgt hat, deutlich erkennen zu lassen und nachzuweisen, daß zahllose Mißerfolge, Störungen und Unregelmäßigkeiten der Gärung, Neigung zur Infektion, Umschlagen von Weinen und Fruchtsäften von dort ihren Ausgangspunkt nahmen.

Es erübrigt nur noch, einige nach der Beendigung dieser Versuche, deren Veröffentlichung infolge anderweitiger Arbeiten warten mußte, erschienene Arbeiten zu erwähnen, weil sie nach meiner in dieser Zeitschrift abgedruckten „Vorläufigen Mitteilung“ im ganzen nichts wesentlich Neues brachten und einige Ungenauigkeiten enthalten.

In einer Arbeit über die Eiweißfällungen durch die Metalle im Bier¹⁾ wurden je zwei Metalle in Blechform eingerollt in Bier gestellt: Fe + Pb, Fe + Cu, Al + Cu, Al + Messing, Pb + Sb, Cu + Sb, Ni + Sb; sie erzeugten nach 8 Tagen noch keine Trübung; stark abgekühlt blieben klar Fe + Pb, Fe + Cu, erzeugten geringe Trübung Al + Cu, Al + Messing, Pb + Sb, stärkere Trübung Sb + Cu und Sb + Ni.

Diese Versuche, soweit sie den meinen parallel gehen, decken sich nicht ganz; besonders ist es merkwürdig, daß Fe + Cu keine Trübung verursacht haben soll, was auf die Beobachtung mit freiem Auge zurückzuführen sein dürfte. Was Sb betrifft, so hat es für die Praxis keine Bedeutung. Die Bemerkungen des Verfassers bezüglich der elektrischen Ströme scheinen auf einem Irrtum zu beruhen; die einzelnen Metallpaare liegen in der Voltaschen Spannungsreihe verschieden weit auseinander; nichtsdestoweniger haben Sb + Ni eine starke Trübung erzeugt, andere Metallpaare nicht. Auch gehört zu einem Element, d. h.

1) F. Schönfeld, Wochenschrift für Brauerei. 1904. p. 133.

einem wirkungsfähigen Ströme zeitigenden System, daß sich die Metalle in der Flüssigkeit nicht berühren, außerhalb der Flüssigkeit aber leitend verbunden sind; da die Metalle sich aber in der Flüssigkeit vielfach berührten, so war ein Potentialgefälle nicht vorhanden. Die diesbezüglichen Folgerungen sind darum gegenstandslos.

Ebensowenig sind die elektrolytischen Einflüsse, von denen Sellen-scheidt¹⁾ spricht, die maßgebende Ursache der Trübungserscheinungen; Sellenscheidt erkennt ganz richtig an, daß alle Metalle mehr oder weniger dem Bier schädlich und daß besonders junge Biere Metalle zu lösen im stande seien.

Seyffert²⁾ untersuchte Fe, Zn, Cu, Pb, verzinn-tes Fe, Cu, Messing und versilbertes Messing.

Im Anschluß an diese Arbeiten teilt Dinklage³⁾ einige Versuche über die Zinntrübungen im Bier mit, die nichts Neues brachten.

Endlich spricht J. Brand⁴⁾ über Zn und Fe und bringt positives Zahlenmaterial über ihre Schädlichkeit.

Das sind meines Wissens alle seit Beendigung meiner Arbeit erschienenen Abhandlungen, die durch diese Mitteilungen genügend ergänzt und berichtigt sein dürften.

Nachdruck verboten.

Nachtrag zu der Litteraturzusammenstellung über die Zersetzung der Fette⁵⁾.

Von Dr. Otto Rahn.

Herr Dr. Bechhold machte mich darauf aufmerksam, daß ich seine „Untersuchungen an dem Klärbeckenschlamm zu Frankfurt a. M.“ (Zeitschr. f. angew. Chemie. 1899. p. 849) übersehen habe. Bechhold hat schon vor Rubner und Schreiber gefunden, daß das im Klärbeckenschlamm vorhandene Fett binnen wenigen Monaten bis auf einen kleinen Bruchteil durch die Tätigkeit von Mikroorganismen vernichtet (wahrscheinlich zu CO₂ oxydiert) wird; Schwefelsäure und Karbolsäure verhindern die Fettzersetzung. Versuche mit Reinkulturen und genaue Analysen des Fettes sind nicht gemacht worden.

-
- 1) Wochenschrift für Brauerei. 1904. p. 144.
 - 2) Wochenschrift für Brauerei. 1904. p. 398.
 - 3) Zeitschrift für das gesamte Brauwesen. 1904. p. 13, 209.
 - 4) Zeitschrift für das gesamte Brauwesen. 1905. p. 15, 237.
 - 5) Dieses Centralblatt. Bd. XV. p. 53.

Nachdruck verboten.

Ueber Verderber von Gemüsekonserven.

Von Dr. C. von Wahl.

Vor 100 Jahren erfand der Franzose Appert eine für die Praxis geeignete Methode, Nahrungsmittel durch Kochen in Glasgefäßen mit Korkverschluß auf Jahre haltbar zu machen. Die Erfindung erregte damals wegen ihrer volkswirtschaftlichen Bedeutung berechtigtes Aufsehen. Indes ist das Appertsche Konservierungsverfahren erst in den letzten Jahrzehnten soweit ausgearbeitet und vervollkommenet worden, daß sich auf ihm eine bedeutende Industrie hat aufbauen können.

Trotz der vervollkommeneten Technik jedoch und obgleich Temperaturen bis 118° angewandt werden, tritt nicht allzu selten auch in vorzüglich geleiteten Fabriken das Verderben großer Posten von Konserven ein. Technische Fehler sind dort ausgeschlossen, es ist also sicher anzunehmen, daß Organismen von entsprechend hoher Widerstandsfähigkeit die Urheber des Verderbens sind. In der Literatur finden sich auch schon viele Angaben über solche widerstandsfähige Organismen, natürlich sind es in allen Fällen sporenbildende Bakterien.

Globig¹⁾ untersuchte und beschrieb einen roten Kartoffelbacillus, der wiederholt seine gründlich sterilisierten Nährmedien zerstörte. Die Sporen dieses Bacillus ertrugen 5—6½ Stunden das Erhitzen in Wasserdampf von 100° C. 3 Stunden ertrugen sie gespannten Dampf von 109—113° C, wurden aber durch gespannten Dampf von 113—116° C in 25 Minuten, von 122—123° C in 10 Minuten, von 126° in 3 Minuten, von 127° C in 2 Minuten, 130° C in 3 Minuten getötet.

Christen²⁾ konnte diese hohe Widerstandsfähigkeit von Bakteriosporen bestätigen. Er untersuchte außer dem Globigschen roten Kartoffelbacillus noch eine Anzahl von ihm beschriebener Bacillen, die er aus Erde isolierte, und stellte fest, daß in einem Fall Sporen sogar Erhitzen in gespanntem Dampf von 135° C 1 Minute lang ertrugen.

Koch³⁾ wies nach, daß die Sporen von *Bacillus carotarum* in trockenem Zustande 8 Stunden lang ein Erhitzen auf 100° C und 4 Stunden ein solches auf 120° C ertrugen, und daß ihre Keimfähigkeit dadurch nicht geschwächt wurde. Durch 30 Minuten dauerndes Erhitzen der Sporen in Gelatine auf 100° C ging die Keimfähigkeit verloren, während kurzes Aufkochen in der Gelatine noch ertragen wurde.

Aus Milch hatte Flügge⁴⁾ eine große Anzahl Bakterien gezüchtet, deren Sporen Siedehitze $\frac{3}{4}$ —2 Stunden ertrugen.

Cambier⁵⁾ fand wie Globig und Christen, daß besonders aus Erde isolierte Bakterien sehr widerstandsfähig sind.

Heinze⁶⁾ giebt über die Widerstandsfähigkeit von bereits bekannten Bakterien, *B. megatherium*, *B. subtilis* und *B. ellenbachensis* einige Daten. Danach erfolgte bei ersterem die Abtötung nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Erhitzen auf 100° C, dagegen fand die Entwicklung noch statt

1) Globig, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. III. 1888. p. 322.

2) Christen, Korrespondenzblatt f. Schweizer Aerzte. 1895. No. 14. p. 446.

3) Koch, Ueber die Entwicklung einiger endosporer Bakterienformen. Göttingen 1888. Habilitationsschrift. Sep. Bot. Zeitung. 1888.

4) Flügge, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XVII. 1894. p. 272.

5) Cambier, Annales de Micrographie. p. 49. (Kochs Jahresbericht. 1896. p. 16.

6) Heinze, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1903. p. 391.

nach 1-stündigem Erhitzen auf 80° C. Nach 3-stündigem Erhitzen von *B. subtilis* bei 100° C erfolgte Abtötung noch nicht. Sporenhaltiges Material von *B. ellenbachensis* wurde durch 1/2-stündiges Erhitzen auf 100° C abgetötet, bei 1-stündigem Erhitzen auf 80° C fand noch Entwicklung statt.

Auch sonst sind noch in der Literatur Angaben über widerstandsfähige Bakterien zu finden, es seien hier nur noch die große Anzahl der aus fadenziehendem Brot isolierten Bakterien erwähnt, welche die Hitzegrade des Backofens überdauern.

Nach den angeführten Daten ist es wahrscheinlich, daß die Verderber der Konserven in die Reihe dieser widerstandsfähigen endosporenbildenden Bakterien gehören.

Aderhold¹⁾ hat in seiner Notiz über die Verderber von Gemüsekonserven als erster die Flora einer Anzahl verdorbener Konserven untersucht und auf das Interesse hingewiesen, welches diese Mikroorganismen, speziell in biologischer Beziehung, beanspruchen.

Aderhold beschreibt den Inhalt verdorbener Konserven, die teils aus Fabriken, teils aus Haushaltungen stammten. Da die Bakterien ohne Ausnahme abgestorben waren, konnten Kulturen nicht angelegt und somit die Artbestimmung nicht vorgenommen und eine etwaige Identität mit bekannten Bakterien nicht festgestellt werden. Lichtbrechende Körnchen, die eventuell als Bakteriosporen hätten angesehen werden können, keimten nicht. Aderhold vermutet daher, daß in den Konserven beim herrschenden Sauerstoffmangel Sporen überhaupt nicht gebildet wurden. Aus der verhältnismäßig einheitlichen Flora in den untersuchten Konserven, mit Ausnahme der Karotten, sowie der Ähnlichkeit mancher Formen mit schon bekannten Bakterien, wie *B. subtilis* (Cohn), *B. asterosporus* (Migula), *B. megatherium* (de Bary) glaubt Aderhold schließen zu dürfen, daß es weder für die einzelnen Gemüsearten spezifische Verderber noch spezifische Gemüseverderber überhaupt gibt.

Außer Aderhold hat noch Casale²⁾ über Erbsenkonserven Versuche angestellt. Casale schließt vom Vorhandensein von Buttersäure auf einen Buttersäureerreger, der vermutlich durch die vegetativen Teile der Pflanze in die Erbsensamen gelangt sei und im Innern der Samen die hohen Temperaturen überstanden habe.

Krämer³⁾ untersuchte verdorbene Konserven, welche in Gläsern und Blechdosen eingeschlossen waren. Als Verderber wurden sporenbildende Bakterien gefunden. Von verdorbenen Spargeln, die breiigen Zerfall zeigten, wurden 3 begeißelte aërobe Species gezüchtet, die sämtlich Sporen bildeten. In luftdichten verschlossenen Blechdosen vermutet Krämer als Urheber anaërobe Bakterien.

Nur durch ein Referat⁴⁾ ist mir die Arbeit von Prof. Duckwall bekannt geworden. Duckwall untersuchte nordamerikanische konservierte, Erbsen verschiedener Sorte, sowie verschiedener Herkunft. Er fand, daß eine sehr verschiedene Sterilisierungszeit notwendig war und ferner benötigten die Erbsen aus verschiedenen Staaten verschieden hohe Temperaturen. Für Erbsenkonserven aus den Nordstaaten

1) Aderhold, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. V. 1899. p. 17.

2) Casali, A., Le Stazioni sperimentali agrarie italiane. Vol. XXXIV. 1901. p. 105—120.

3) Krämer, Bericht der königl. Lehranstalt Geisenheim a. Rh. 1903.

4) Deutsche Konservenzeitung. 1904. No. 15.

waren geringere Temperaturen notwendig, als für die aus den mittleren Staaten. Duck wall gibt dem Wasser, den klimatischen und geologischen Einflüssen und schießlich auch der verschiedenen Beschaffenheit der Bakterien Schuld und weist unter anderem darauf hin, daß Bakterien, die im Laboratorium gezüchtet wurden, bei weitem nicht die Widerstandsfähigkeit besitzen, wie die, welche aus der freien Natur stammen. Aeltere eingeschrumpfte Sporen sollen unempfindlicher für schädigende Einflüsse sein, als solche mit glatter und durchlässiger Haut. Leider war es mir bisher nicht möglich, das Original der Duck wallschen Arbeit zu erhalten, so daß nicht konstatiert werden konnte, welche Beweise Duck wall für diese Annahmen beibringt.

In den bisher untersuchten verdorbenen Konserven fanden sich somit, wie zu erwarten war, stets sporenbildende Bakterien als Urheber des Verderbens und da ein nachträgliches Eindringen dieser Organismen ausgeschlossen war, so mußten die Organismen zu den Bakterien mit größter Widerstandsfähigkeit gehören. Aderhold stellte sich schon die Frage, ob es spezifische Konserven- und besonders Gemüsekonservenzerstörer gibt? Diese Frage, sowie die Erforschung der biologischen Eigenschaften dieser Bakterien sollte Gegenstand dieser Arbeit sein.

Die Frage, ob es spezifische Gemüsezerstörer gibt, konnte auf zwei Arten beantwortet werden.

Einmal, indem eine Anzahl verdorbener Konserven auf ihre Flora untersucht und die gefundenen Organismen untereinander und mit bereits bekannten verglichen und eventuell identifiziert wurden, oder indem bereits bekannte erd- und wasserbewohnende Bakterien auf Gemüse geimpft und ihre Fähigkeit, in diesen Konserven zu wachsen, Veränderungen hervorzubringen, sowie hohe Temperaturen zu ertragen, untersucht wurde. In der folgenden Arbeit sind beide Wege eingeschlagen worden.

Anfänglich standen zu den Untersuchungen verdorbene Konserven aus Fabriken nicht zur Verfügung. Es mußten daher die Konserven selbst eingekocht werden, um auf diesem Wege verdorbene Konserven zu erhalten. Zur Verwendung gelangten Spargeln, Erbsen und Mohrrüben. Die Gemüse wurden in der üblichen Weise geputzt und vorbereitet, jedoch nicht, wie es in den meisten geordneten Fabriken üblich ist, blanchiert, d. h. in gewöhnlichem Wasser oder in Wasser mit Citronensäurezusatz vorgekocht. Die gereinigten Gemüse wurden direkt in Litergläser gefüllt, mit abgekochtem Wasser aufgefüllt und geschlossen. Als Einmachegefäße wurden Wolfsche Gläser verwendet, die durch ihren guten Verschluß Garantie für Luftdichtigkeit boten. Als Deckel funktionierte eine einfache runde Glasscheibe, die vermittels eines Bügels (altes Modell) einen Harzring auf den matt geschliffenen Rand preßt.

Die Gläser wurden darauf in einem Kochschen Dampfkochtopf 2 Stunden lang gekocht und zwar wurde die Zeit von dem Moment gerechnet, wo das durch die Spitze des Helmes (Deckels) gesteckte Thermometer 100° C anzeigte.

Die Gläser wurden nach dem Kochen auf ihre Dichtigkeit geprüft und darauf in den Brutschrank, bei einer Temperatur von 28° C hingestellt. Nach 2 Tagen waren sämtliche Konserven verdorben, und es erfolgte sogleich die Untersuchung des Inhaltes, sowie die Weiterimpfung der Bakterien.

Durch die dankenswerte Vermittelung der „Konservenzeitung“ gelang es späterhin, zwei Sendungen von verdorbenen Konserven aus Groß-

betrieben zu erhalten. Die Sterilisierungszeit war bei der ersten Sendung nicht angegeben und war wohl die allgemein übliche, bei der zweiten waren die Kochgrade und die Kochdauer gleichfalls die üblichen, bei Bohnen 117° C ca. 15 Minuten lang, bei Erbsen 117° C ca. 20 Minuten lang, bei Pfifferlingen 112° C ca. 20 Minuten und bei Trüffeln 112° C 30 Minuten Kochzeit.

Die meisten Blechdosen waren stark aufgetrieben (bombiert). In dreien dieser stark aufgetriebenen Dosen mit Erbsenkonserven wurde das Gasgemisch untersucht. 40—50 Proz. bestanden aus Kohlensäure, der Rest aus Gasen, die mit blauer Flamme verbrannten, wohl hauptsächlich Wasserstoff.

Der Untersuchungsbefund war folgender:

I. Verdorbene Konserven eigener Kochung.

Mohrrüben, Gefäß I. Es fand eine sichtbare Gasentwicklung nicht statt. Der Geruch war eigenartig, nicht gerade unangenehm. Auf der über den Karotten stehenden Flüssigkeit hatte sich eine gelblich-weiße gefaltete, etwas körnige Decke gebildet. Der obere Teil der Konserve unter der Decke, welcher alkalische Reaktion zeigte, war dunkler gefärbt als der untere, schwach sauer reagierende, nicht veränderte. Es fanden sich 2—3-fach zusammengesetzte, ca. 3μ lange und $0,8 \mu$ breite bewegliche Stäbchen und in der Decke Stäbchen mit ovalen Sporen.

Der Inhalt von 3 anderen Gefäßen mit eingekochten Mohrrüben stimmt in der Art des Verderbens mit dem vorigen vollständig überein. In 2 weiteren Gefäßen war die Bakteriendecke ein wenig von den vorigen verschieden, der Befund war im übrigen der gleiche wie in den übrigen Gefäßen.

Erbsen, Gefäß I. Eine sichtbare Gasentwicklung fand nicht statt. Der Geruch war nicht angenehm. Eine feuchtglänzende, genetzte Decke hatte sich gebildet. Die unterstehende Flüssigkeit war alkalisch und die Erbsen dunkler gefärbt. Ein bis vielfach zusammengesetzte Stäbchen ca. 3μ lang und $0,7 \mu$ breit, von schlängelnder Bewegung, bildeten die Decke. Es fanden sich Stäbchen mit ovalen Sporen darin.

4 andere Gefäße mit Erbsen waren in gleicher Weise verdorben. Die Art des Verderbens im 6. Gefäß stimmte mit der bei den Mohrrüben Gefäß I—IV beobachteten überein.

Spargeln, Gefäße I—VI. In allen Gläsern mit Spargeln fand Gasentwicklung statt. Der Geruch war unangenehm (Methylamin). Eine Deckenbildung wie bei den vorigen war nicht eingetreten, wohl aber eine Schleimbildung. Die Spargeln zerfielen durch Lösung der Mittellamelle zu Brei. Die Farbe der Spargeln war schwach gelb, die Flüssigkeit schwach sauer. Es fanden sich ca. 3μ lange und $0,5$ — $0,7 \mu$ breite Stäbchen, dazwischen lange Fäden.

II. Befund der ersten Sendung der Konservenzeitung.

Es wurden 6 Spargelkonserven untersucht. Die Büchsen waren stark durch Gas aufgetrieben. Der Inhalt zeigte genau dieselben Zersetzungserscheinungen und ähnliche Bakterienformen, wie sie schon bei den selbst eingekochten Spargeln beobachtet wurden.

III. Befund der zweiten Sendung der Konservenzzeitung.

Junge Erbsenkonserven, 1 Büchse. Starke Gasentwicklung, unangenehmer Geruch, keine Deckenbildung. Die Flüssigkeit war schwach sauer, von heller Farbe. Von den Erbsen waren nur die Samenschalen übrig. Stäbchen ohne Bewegung ca. 3μ lang und $0,7 \mu$ breit.

Spargelkonserven Büchse a. Viel Gas. Eigenartiger nicht angenehmer Geruch. Die Spargeln sind nicht verändert. Die Flüssigkeit ist trübe und schwach sauer. Keine Bakterien, aber runde lichtbrechende Körnchen, vielleicht Sporen.

Spargelkonserven Büchse b. Viel Gas. Der Geruch der Spargeln ist wenig verändert, ebenso die Konsistenz der Spargeln und die Farbe. Die Flüssigkeit ist trübe und schwach sauer ($0,028 \text{‰}$ Säure, als Essigsäure berechnet). Die Stäbchen sind ca. 4μ lang und $0,7 \mu$ breit, häufig finden sich lange Fäden und runde lichtbrechende Körnchen.

Spargelkonserven Büchse c. Gas ist ziemlich viel vorhanden, der Geruch wenig verändert. Die Konsistenz und Farbe sind normal. Die Flüssigkeit ist trübe, schwach sauer ($0,059 \text{‰}$ Säure). Die Stäbchen sind ca. $3,1 \mu$ lang und $0,5 \mu$ breit, häufig sind auch lange Fäden.

Spargelkonserven 10 Büchsen (d—n). Die Gasentwicklung ist stark, der Geruch nicht angenehm. Die Flüssigkeit ist hellfarbig, trübe und schwach sauer ($0,024 \text{‰}$ Säure). Es finden sich lange Fäden und lichtbrechende Körnchen.

Spargelkonserven Büchse o. Eine starke Gasentwicklung und Geruch nach Methylamin sind vorhanden. Die Flüssigkeit ist hellfarbig, trübe. Die Spargeln sind wenig zerfallen. Die Flüssigkeit ist schwach sauer. Die Bakterien bilden 2—3-fach zusammengesetzte Stäbchen. Die Individuen sind ca. $3\text{—}4 \mu$ lang und $0,8 \mu$ breit.

Bohnenkonserven Büchse a. Gas ist vorhanden. Der Geruch und das Aussehen sind normal. Die Flüssigkeit ist schwach sauer ($0,037 \text{‰}$ Säure) und trübe. Lange Fäden, ca. $0,7 \mu$ breit und ovale Sporen.

Bohnenkonserven Büchse b. Gas ist vorhanden, Geruch faulig, Farbe hell, der Zerfall breiig, die Reaktion schwach sauer ($0,05 \text{‰}$ Säure). Die Bakterien bilden kurze Stäbchen, ca. 3μ lang und $0,8 \mu$ breit, und rundlich bis ovale Sporen.

Trüffelkonserven Büchse a. Gas ist viel vorhanden, der Geruch aromatisch. Die Konsistenz und der Geschmack der Trüffeln sind angenehm, die Flüssigkeit schwach sauer. Stellenweise finden sich rote Flecken. Die Flüssigkeit ist trübe. 2—3-fach zusammengesetzte ca. 3μ lange und $0,8 \mu$ breite Stäbchen.

Trüffelkonserven Büchse b. Reichliche Gasentwicklung tritt auf. Der Geruch ist aromatisch, die Konsistenz, Farbe und Geschmack sind kaum verändert. Die Flüssigkeit ist trübe, schwach sauer. Die Stäbchen sind $3\text{—}4 \mu$ lang und $0,8 \mu$ breit.

Junge Trüffelkonserven. Die Trüffeln sind normal, hellfarbig, die Flüssigkeit schwach sauer, stark getrübt mit Schleimflocken, ca. 3μ lange und $0,7 \mu$ breite Stäbchen oder lange Fäden.

Pfifferlingkonserven Büchsen 1 und 2. Reichliche Gasentwicklung. Der Geruch und die Konsistenz sind normal. Die Flüssigkeit kaum sauer, getrübt. $3\text{—}4 \mu$ lange und $0,8 \mu$ breite, zum Teil 2—3-teilige, meist aber einzelne Stäbchen.

Champignonkonserven. Gas ist vorhanden, der Geruch nicht angenehm. Die Champignons sind weder in der Konsistenz noch Farbe

verändert. Die Stäbchen sind 3μ lang und $0,8 \mu$ breit. Ovale Sporen sind vorhanden.

Zur Abimpfung der Bakterien aus diesen Konserven wurde bei den Wolffschen Gläsern mittels eines sterilen Messers der Deckel, nachdem der Rand abgeflammt worden war, geöffnet und die Bakterien mit steriler Platinöse in die verschiedenen Nährmedien übergeführt.

Bei den Blechbüchsen wurde die mit einem spitzen, sterilen Konservenöffner zu durchstoßende Stelle stark abgeflammt, dann ein Loch gebohrt, aus dem unter Gasdruck in weitem Strahl die Flüssigkeit austrat. Von diesem Strahl wurde ein Tropfen in steriler Platinöse aufgefangen und in die verschiedenen Nährmedien übergeführt.

Es konnten aus der großen Anzahl Konserven nur wenige Bakterienarten isoliert werden, die dann weiter kultiviert und auf ihre Eigenschaften untersucht wurden. Bei den Büchsen, welche längere Zeit in warmem Raum gelagert hatten und stark aufgetrieben waren, gelang es nur selten, Bakterien zu isolieren, obgleich anaërobe und aërobe Kulturen in verschiedenen Nährmedien angelegt und bei verschiedenen Temperaturen gehalten wurden. Vermutlich waren die Organismen an ihren eigenen Stoffwechselprodukten zu Grunde gegangen. Auch fanden sich in diesen Konserven zweifellos Sporen, die nicht keimten. Dieselbe Beobachtung hatte, wie schon erwähnt, auch Aderhold gemacht.

Beschreibung der aus den Konserven isolierten Bakterien.

Bacillus aus Karottenkonserven (K. I.), *Bacillus daucarum*.

Aus den selbsteingekochten Karotten wurden 6 scheinbar verschiedene aërobe Bakterien isoliert, von denen sich 5 bei genauerer Prüfung als identisch erwiesen, der sechste konnte, da Vergleichsmaterial von Král in Prag vorlag, als *Bacillus mesentericus fuscus* erkannt werden.

Der andere in den Karottenkonserven am häufigsten vorkommende, auch in einer verdorbenen Erbsenkonserve gefundene *Bacillus*, dessen Identifizierung mit einer bekannten Form mir nicht möglich war, bildet kurze $1,8-4,68 \mu$ lange und $0,8 \mu$ breite, stumpfendige zwei- bis vielfach zusammengesetzte, zeitweise lebhaft bewegliche Stäbchen mit peritricher Begeißelung. Die ovalen $1,55 \mu$ langen und $0,9 \mu$ breiten Sporen werden in der Mitte des Stäbchens gebildet, sind stark lichtbrechend und keimen bei Ueberführung in ein frisches Nährmedium meist äquatorial; bei einer Spore konnte jedoch eine polare Keimung beobachtet werden. Der *Bacillus* entfärbt sich nicht nach Gram.

Auf Agarröhren zeigt sich nach 24 Stunden bei 25°C eine weiße bis gelbliche, später ins Graubraune übergehende Auflagerung, die anfangs glatt, später gefaltet ist. Längs dem Stich findet keine Entwicklung statt.

In Gelatineröhren tritt bald eine strumpfförmige Verflüssigung ein, am Grunde des Strumpfes sammelt sich ein flockiges Konglomerat. Auf der verflüssigten Gelatine bildet sich eine weiße, gefaltete und körnige Haut. Die unterstehende verflüssigte Gelatine wird dunkelfarbig und reagiert alkalisch.

Auf Gemüsebouillon hat sich nach 24 Stunden eine glatte, etwas durchsichtige gelbliche, nach 5×24 Stunden eine stark gefaltete körnige Decke gebildet.

Auf Erbsbrei entsteht nach 24 Stunden eine weiße bis gelbliche körnige, großfaltige, sehr kräftige Decke. Der Brei unter der Decke wird alkalisch und infolgedessen dunkler gefärbt. Auf grünen Erbsen entsteht nach 2×24 Stunden eine faltige körnige Decke. Das Wachstum verläuft weniger kräftig als auf dem Erbsbrei.

Auf Schnittbohnen entsteht nach 2×24 Stunden eine weißgelbliche, gefaltete, körnige Decke. Die Entwicklung ist dieselbe wie bei den grünen Erbsen.

Auf Spargeln ist die Entwicklung etwas schwächer als auf den anderen Gemüsen, erst nach 4×24 Stunden entsteht eine Decke wie auf Erbsbrei.

Auf Karotten bildet sich nach 2×24 Stunden eine schwache Decke, die sich nach 7×24 Stunden gefaltet hat, aber nicht so kräftig ist wie auf den vorgenannten Gemüsen.

Auf Kartoffelscheiben bildet sich nach 24 Stunden ein weißgelblicher, allmählich ins Graubraune übergehender, bald die ganze Scheibe bedeckender, runzeliger, gefalteter Belag.

Auf Karottenscheiben bildet sich ein ähnlicher, nur schwächerer, langsamer wachsender Belag.

Stärke wird vom Bacillus schnell hydrolysiert, Milch durch Bildung von Buttersäure koaguliert.

Der Karottenbacillus wurde wie auch die folgenden noch zu beschreibenden Bacillen auf den von Gottheil¹⁾ in seiner Arbeit „Botanische Beschreibung einiger Bodenbakterien“ vorgeschlagenen Nährmedien kultiviert.

Die Zusammensetzung der Nährmedien ist folgende:

No. 0: Fleischextrakt Liebig 1,0, Pepton 1,0, Rohrzucker 0,5, Dextrose 0,5, Milchzucker 0,5, Seignettsalz 0,1 ad 120,0 Wasser. No. I: Fleischextrakt Liebig 1,0, Pepton 1,0, Rohrzucker 0,1, Wasser 100,0. No. III: Pepton 1,0, ad 100,0 mineralische Nährlösung. No. IV: Asparagin 1,0 ad 100,0 mineralische Nährlösung. No. V: Asparagin 1,0, Glycerin 1,0, Rohrzucker 0,5 ad 100,0 mineralische Nährlösung. No. V α : Asparagin 0,1, Rohrzucker 3,0 ad 100,0 mineralische Nährlösung. No. V β : Asparagin 1,0, Galaktose 3,0 ad 100,0 mineralische Nährlösung. No. V γ : Asparagin 1,0, Milchzucker 3,0 ad 100,0 mineralische Nährlösung. No. V δ : Asparagin 1,0, Glycerin 3,0 ad 100,0 mineralische Nährlösung. No. VI: Weinsaures Ammonium 1,0, Rohrzucker 0,5, Glycerin 1,0 ad 100,0 mineralische Nährlösung. No. VII: Kalisalpeter 1,0, Rohrzucker 0,5, Glycerin 1,0 ad 100,0 mineralische Nährlösung. No. VIII: Kaliumnitrit 0,05, Soda 0,05 ad 1000,0 mineralische Nährlösung. No. IX: Dextrose 0,5, Rohrzucker 0,5, Glycerin 0,5 ad 100,0 mineralische Nährlösung. No. X: Asparagin 1,0, Dextrose 3,0 ad 100,0 mineralische Nährlösung. No. XI: Auf 1 l mineralische Nährlösung 0,25 mg Ammoniumsulfat und 0,5 Natriumkarbonat. Die mineralische Nährlösung bestand aus Kaliumphosphat 1,0, Chlorcalcium 0,1, Magnesiumsulphat 0,3, Chlornatrium 0,1, destilliertes Wasser 1000,0.

Die Nährlösung II, die im wesentlichen aus Trockensubstanz der Bierwürze besteht, wurde wegen der verschiedenen Zusammensetzung dieses Nährmediums zu den Versuchen nicht herbeigezogen.

Das Resultat der Kulturversuche ist in nachstender Tabelle angegeben. 4 Karottenbacillen, sowie ein von Erbsen isolierter Bacillus, die zuerst für verschiedene Species angesehen, aber später identifiziert werden

1) Gottheil, O., Botanische Beschreibung einiger Bodenbakterien. (Botanisches Centralbl. Abt. II. Bd. VII. 1901. p. 430.)



Wachstumsintensität nach 6×24 Stunden

| | 0 | I | II | III | IV | V | V _α |
|---------------------------------|---|--------------------------------------|---|--|--|---|--|
| Bacillus von Karotten I | 4 Stark gefaltete feuchte Decke | 1½ Zarte Haut | 3 Feuchte glänzende gefaltete Decke | 3 Feuchte glänzende gefaltete Decke | 3 Feuchte gefaltete Decke | 3 Blasig auf- getriebene Decke | 2 Milchige glatte Decke |
| Bacillus von Karotten II | 3 Zarte Decke zum Teil gesunken | 3 Zarte Decke | 3 Glatte glänzende weiße Decke | 3 Feuchte glänzende gefaltete gelbliche Decke | 2 Zarte weiße Haut | 3 Weiße etwas gefaltete Decke | 2 Milchige glänzend weiße Haut |
| Bacillus von Karotten III | 3 Sinkende Decke | 1½ Trübung Rahm- rand | 4 Feuchte bräun- liche gefaltete Decke | 1½ Milchige Haut | 2 Zarte wenig ge- runzelte Decke | 2½ Glän- zende weiß ge- runzelte Decke | 1½ Milchige sehr zarte Haut |
| Bacillus von Karotten VI | 2 Milchige zarte Haut | 1½ Milchige sehr zarte Haut | 2 Feuchte glänzende kaum gefaltete Decke | 1 Trübung | 0 | 2 Milchige glatte Decke | |
| Bacillus von Erbsen II | 2 Zarte Haut | 1 Trübung | 3 Weiße gefaltete blasige Decke | 2½ Weiße feucht- glänzende Decke | 2½ Zarte weiße körnige Decke | 2 Milchige glänzende Decke | 2 Milchige glänzende Decke |

konnten, sind hier getrennt angeführt, um zu zeigen, daß ein und dieselbe Species in den Gottheilschen Nährmedien manchmal verschieden kräftiges Wachstum zeigt. Es ist in der Tabelle außer der Wachstumsintensität (4 kräftiges, 0 kein Wachstum) die Deckenbildung und Trübung angegeben. Die Deckenbildung beginnt mit einer Trübung, es bildet sich dann am Gefäß ein rahmartiger Rand, der sich allmählich zu einer milchigen feucht glänzenden Haut auswächst, diese erhält Falten und Runzeln und erscheint häufig gekörnt, d. h. wie mit Mehl bestäubt, die Farbe geht von weiß in gelblich und schließlich in graubraun über.

Bacillus von Erbsen. *Bacillus aerobius*. (Aus Erbsen Gefäß I isoliert.)

Der aërober Bacillus hat zeitweise eine lebhafte schlängelnde Bewegung, welche er einer peritrichen Begeißelung verdankt. Die einfach bis vielfach zusammengesetzten Stäbchen sind 2,6–3,1 μ lang und 0,65–0,8 μ breit. Die Sporen sind oval, ca. 1 μ lang und 0,8 μ breit und keimen seitlich. Die Stäbchen entfärben sich nicht nach Gram.

In Agarröhrchen zeigt sich eine oberflächliche, durchsichtige, feuchtglänzende, milchig weiße Kolonie. Längs dem Stich tritt kein Wachstum auf.

In Gelatineröhrchen beginnt die Verflüssigung bei 20° C nach 24 Stunden und schreitet schnell strumpfförmig fort. Am Grunde des Strumpfes setzen sich Flocken ab. Es bildet sich eine zarte, durchsichtige, weiße, nicht gerunzelte oder gekörnelte, aber hoch gefaltete Decke.

in den Gottheilschen Nährmedien.

| Vβ | Vγ | Vδ | VI | VII | VIII | IX | X | XI |
|---|---|---|---|---------------------------------|------|----|--|----|
| 4 Gefaltete braune Decke | 4 Körnige weiße Decke | 3 Blasig auf- getriebene Decke | 1½ Rahm- rand | 2 Milchige Decke | 0 | 0 | 4 Weiße körnige gerunzelte Decke | 0 |
| 2 Milchige weiße Decke | 4 Gefaltete gelbliche Decke | 2 Milchige glänzend weiße Decke | Es tritt erst nach 10 Tg. ein schwacher Rahm- rand auf | 2 Zarte milchige Decke | 0 | 0 | 3 Körnige weiße Haut | 0 |
| 3 Gefaltete etwas bräun- liche Haut | 4 Starke gefaltete gelbliche Decke | 3 Körnige gerunzelte Decke | Wie bei K II | 1½ Zarte Haut | 0 | 0 | 4 Kräftige gefaltete gelbe Decke | 0 |
| 2½ Glän- zende milchige Decke | 3 Gerun- zelte gelb- lich weiße Decke | 2 Milchige glänzende Decke | Wie bei K II | ½ Trübung | 0 | 0 | 2½ Glän- zende milchige Decke | 0 |
| 2 Milchige glänzende Dicke etwas schwächer wie K VI | 4 Stark gefaltete gelbe Decke | 3 Gefaltete weiße Decke | 2 Milchige feuchte weiße Decke | ½ Trübung | 0 | 0 | 3½ Gefaltete gelbliche Decke | 0 |

Auf Gemüsebouillon entsteht nach 24 Stunden eine hochgefaltete, glatte, feuchtglänzende, gelblich durchscheinende Decke. Die Bouillon unter der Decke wird alkalisch und dunkler gefärbt.

Auf Erbsbrei bildet sich nach 24 Stunden eine dem Aussehen und in der Wirkung der auf Gemüsebouillon erwachsenen ähnliche, nur kräftigere Decke.

Auf grünem Erbsengemüse ist die Decke nach 2 × 24 Stunden noch nicht so kräftig, wie auf dem Erbsenbrei, sonst wie bei den vorhergehenden. Die Konsistenz der Erbsen wird nicht verändert, die Farbe ist etwas dunkler geworden.

Auf grünem Bohngemüse ist die Entwicklung gleich der auf grünen Erbsen.

Auf Spargelgemüse hat sich erst nach 6 × 24 Stunden eine Decke, wie sie bei der Gemüsebouillon beschrieben wurde, entwickelt. Die Konsistenz der Spargeln ist nicht verändert.

Auf dem Karottengemüse hat sich nach 8 Tagen eine zarte, milchige Decke gebildet.

Auf Kartoffelscheiben entsteht nach 24 Stunden ein sich schnell verbreitender Belag, nach 4 × 24 Stunden eine glatte, feuchtglänzende, hochgefaltete Decke. Die Kartoffelscheibe wird dunkler.

Auf Karottenscheiben entsteht ein glänzender, durchscheinender Belag, der sich über die ganze Scheibe ausdehnt. Die Farbe der Karotten wird schmutzig graubraun.

Stärke wird schnell hydrolysiert. Milch wird koaguliert. Die Deckenbildung beginnt, wie beim vorigen Bacillus, mit einer Trübung, Bildung eines Rahmrandes und schließlich einer zarten milchigen Haut. Diese glatte, glänzende, durchsichtige Haut beginnt sich zu falten, ohne jedoch gerunzelt oder gekörnt zu sein. Die Farbe ist weiß, läßt aber das Substrat durchscheinen. Auf Flüssigkeiten sinken schließlich die Falten und allmählich die Decke. Die untergesunkenen Bakterien entwickeln spärlich Gas.

Der Bacillus erinnert in der Deckenbildung an *B. mesentericus fuscus*.

Wachstumsintensität nach 6×24 Stunden in den Gottheilschen Nährmedien.

| | 0 | I | II | III | IV | V | V α | V β | V γ | V δ | VI | VII | VIII | IX | X | XI |
|--------------------------|---------|---------|-----------------------------------|---------|----|-----------------------------|-----------------------|-----------------------------|-----------------------|------------|---------|-----|------|----|-------------------------------|----|
| <i>Bacillus aerobius</i> | 0 | 1 | 4 | 1 | 0 | 2 $\frac{1}{2}$ | 3 | 2 $\frac{1}{2}$ | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 |
| | Rahrand | Trübung | Glänzende feuchte gefaltete Decke | Trübung | | Zarte feuchte milchige Haut | Feuchte milchige Haut | Zarte feuchte milchige Haut | Feuchte milchige Haut | Trübung | Trübung | | | | Milchige feuchte glatte Decke | |

Bacillus von Spargeln. *Bacterium asparagi*. (Von den selbst eingekochten Spargeln isoliert.)

Das fakultativ aërobe Bakterium bildet $2,5 \mu$ lange und $0,4 \mu$ breite Stäbchen, ältere Bakterien sind in der Mitte etwas eingeschnürt. Es scheinen die Sporenträger zu sein, da in den beiden Hälften sich lichtbrechende runde Körnchen befinden, welche allerdings nicht zur Keimung gebracht werden konnten. Eine Bewegung der Stäbchen, sowie Geißelbildung konnten nicht beobachtet werden. Das Bakterium entfärbt sich nach Gram.

In Agarröhrchen entwickelt sich auf der Oberfläche eine glänzende, hyaline, weiße bis gelbliche, glattrandige Kolonie. Die Entwicklung ist längs dem ganzen Stich gleichmäßig. Nach 24 Stunden wird das Agar vom Strich aus durch Gasblasen zerklüftet. Es tritt ein Geruch nach Methylamin auf.

In Gelatineröhrchen ist die Entwicklung eine gleiche, wie in den Agarröhrchen. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

In Gemüsebouillon entsteht zuerst eine Trübung und nach 24 Stunden Gärung. Es setzt sich ein schleimiger Bodensatz ab, auf der Oberfläche zeigt sich nur ein zartes, vergängliches, opalisierendes Häutchen. Die Schleimbildung, die anfänglich sehr stark war, nahm bei fortgesetzter Kultur ab.

Auf Erbsbrei bildet sich eine schleimige, eiterähnliche, nach Methylamin stinkende Auflagerung. Es tritt bald Gärung ein.

Auf grünem Erbsengemüse tritt nach 2×24 Stunden Gärung ein. Die Erbsen bleiben hellfarbig, sind von Schleim umwickelt. Riechen, wie oben angegeben, nach Methylamin.

Auf Gemüse von grünen Bohnen ist die Entwicklung wie oben.

Auf Spargelgemüse gleichfalls.

Auf Karotten tritt nach 6×24 Stunden geringe Schleimbildung und Gärung ein.

Auf Kartoffelscheiben entsteht nach 24 Stunden eine weiß-

gelbliche, glänzende Auflagerung von schleimiger Konsistenz und Geruch nach Methylamin. Eine Gärung wurde nicht bemerkt.

Auf Karottenscheiben tritt nach 24 Stunden eine durch Gärung blasig-schaumige, schleimige Kolonie auf. Nach 3×24 Stunden hört die Gärung auf.

Stärke wird sehr langsam hydrolysiert.

Wachstumsintensität nach 6×24 Stunden in den Gottheilschen Nährmedien.

| | 0 | I | II | III | IV | V | V _α | V _β | V _γ | V _δ | VI | VII | VIII | IX | X | XI |
|---------------------------|---|---|-------------------------------|---------|---------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|---------|---------|------|----|----------------------|----|
| <i>Bacterium asparagi</i> | 4 | 4 | 2½ | 1 | 2 | 3 | 3 | 3 | 4 | 3 | 2 | 1 | 0 | 0 | 4 | 0 |
| Trübung und Rahmrand | | | Trübung und geringer Rahmrand | Trübung | Trübung | Trübung und Rahmrand | Trübung und Rahmrand | Trübung und Rahmrand | Trübung und Rahmrand | Trübung und Rahmrand | Trübung | Trübung | | | Trübung und Rahmrand | |

Spargelbacillus. Bacillus malakofaciens. (Von selbsteingekochten Spargeln isoliert.)

Der fakultativ aërober Bacillus bildet 2,7–3,12 μ lange und 0,7 μ breite 1–3-fach zusammengesetzte in ihrer Jugend sehr bewegliche Stäbchen mit schlängelnder Bewegung, die sie einer peritrichen Begeißelung verdanken, häufig finden sich lange Fäden. Die Sporen sind oval, ca. 1 μ lang und 0,7–0,8 μ breit, sie werden meist zu zwei in den Stäbchen gebildet. Der Bacillus erinnert in Aussehen und der Wirkung an *B. asterosporus* (Meyer) Migula¹⁾. Der Bacillus entfärbt sich nach Gram.

In Agarröhrchen zeigt sich in 24 Stunden eine weißliche, glänzende Auflagerung, ein gleichmäßiges Wachstum längs dem ganzen Stich und Zerklüftung des Agars. Das Wachstum ist sehr spärlich.

In Gelatineröhrchen entsteht eine kleine weiße Kolonie, die aber durch Verflüssigung der Gelatine schnell einsinkt und einen strompförmigen Verflüssigungstrichter bildet. Nach 5×24 Stunden tritt Gasentwicklung ein. Der Geruch ist aromatisch. Die verflüssigte Gelatine wird klar.

Auf Gemüsebouillon tritt nach 24 Stunden Gärung auf, keine Deckenbildung. In der Flüssigkeit schwimmen einige Flocken, dieselbe ist schwach alkalisch, aber nicht dunkler geworden.

In Erbsbrei ist eine geringe Gärung entstanden. Auf der über dem Brei stehenden Flüssigkeit, welche wenig dunkler geworden ist, schwimmen flockige Bakterienmassen.

Auf Gemüse von grünen Erbsen ist nach 24 Stunden eine geringe Flockenbildung eingetreten. Nach 4×24 Stunden tritt ein breiiger Zerfall der Erbsen ein, wobei die Mittellamellen der Zellen gelöst werden. Die grüne Farbe der Erbsen wird nicht verändert, es tritt lebhaftere Gärung auf.

In Gemüsen von grünen Bohnen, wie auch auf Spargelgemüse ist die Entwicklung dieselbe wie auf den grünen Erbsen.

In Gemüsen von Karotten tritt nach 5×24 Stunden Gärung auf, nach 8×24 Stunden der breiige Zerfall. Die Farbe des Karottenbreies ist nur wenig heller.

1) Migula, W., System der Bakterien. Bd. II. 1900. p. 528.

Auf Kartoffelscheiben erscheint nach 24 Stunden ein schwacher, glänzender, milchiger Belag. Durch Lösung der Mittellamelle und die Gasentwicklung wird die Scheibe blasig aufgelockert und zerfällt schließlich zu Brei. Die Farbe des Breies ist weißgelb, der Geruch aromatisch.

Auf Karottenscheiben geht die Entwicklung langsamer vor sich. Die Farbe des Breies ist normal, der Geruch angenehm aromatisch. Stärke wird sehr schnell hydrolysiert.

Dieser Bacillus ist mit einem von grünen Bohnen isolierten identisch. Die letztere Konserve stammte von der Sendung der Konservenzeitung.

Wachstumsintensität nach 6×24 Stunden in den Gottheilschen Nährmedien.

| | 0 | I | II | III | IV | V | V α | V β | V γ | V δ | VI | VII | VIII | IX | X | XI |
|-------------------------------------|--------------------------|--------------------------|----------------|----------------|----|----------------|------------|-----------|------------|------------|----------------|-----|------|----|---|----|
| Bacillus malakofaciens von Spargeln | 2 Trübung | 2 Trübung | 0,5 Trübung | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Bacillus malakofaciens von Bohnen | 3 Trübung u. Rahmrand | 3 Trübung u. Rahmrand | 0 | 0,5 Trübung | 0 | 0,5 Trübung | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,5 Trübung | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Bohnenbacillus. Bacillus phaseoli. (Aus der Bohnenkonserve Büchse a isoliert.)

Der Bacillus besteht aus ca. 3μ langen und $0,8 \mu$ breiten Stäbchen, die 3–4-fach zusammengesetzt sind. Die Bewegung ist eine schlängelnde, die Begeißelung eine peritriche. Die Sporen sind groß, oval und werden gewöhnlich zu zwei im Stäbchen gebildet. Der Bacillus entfärbt sich nicht nach Gram.

In Agarröhrchen bildet sich oberflächlich vom Stich aus eine weißgraue Kolonie mit glattem Rande. Längs dem Stich erfolgt das Wachstum, je tiefer um so schwächer.

In Gelatineröhrchen tritt eine schnelle, strumpfförmige Verflüssigung ein. Auf der verflüssigten Gelatine bildet sich eine starke, weißgelblich glänzende, gefaltete Decke.

Auf Gemüsebouillon bildet sich nach 24 Stunden eine weiße, gerunzelte, trocken aussehende Decke. Die Bouillon wird alkalisch und dunkler gefärbt. Auf Erbsbrei bildet sich eine weiße, gerunzelte gefaltete, trocken aussehende Decke, der Erbsbrei wird dunkler.

Auf Gemüse von grünen Erbsen, grünen Bohnen und Spargeln bilden sich ähnliche Decken wie auf dem Erbsbrei, nur nicht so kräftig, auch hier wird das Substrat dunkler.

Auf Gemüse von Karotten entsteht eine zarte, milchige weiße Decke. Die Konsistenz der Karotten wird ebensowenig wie die der anderen Gemüse verändert.

Auf Kartoffelscheiben entsteht eine weiße, später gelbliche, dann graue, fältige, körnige Auflagerung. Die Kartoffel nimmt gleichfalls eine graue Farbe an.

Auf Karottenscheiben bildet sich nur eine spärliche graue Auflagerung, die Karotten werden mit der Zeit mißfarbig.

Stärke wird schnell hydrolysiert.

Dieser Bacillus, welcher von grünen Bohnen isoliert wurde, ist nahe verwandt mit einem von Spargeln isolierten Bacillus, weswegen letzterem nur die Bezeichnung II zugefügt wurde. Beide erinnern wiederum lebhaft an den von Karotten gezüchteten Bacillus.

Wachstumsintensität nach 6×24 Stunden in den Gottheilschen Nährmedien.

| | 0 | I | II | III | IV | V | V _α | V _β | V _γ | V _δ | VI | VII | VIII | IX | X | XI |
|--------------------------------------|--|------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|------------------------------|-----------------------|-----------------------|------|-----------------|------------------------------------|----|
| Bacillus phaseoli I von Bohnen | 4 | 2 | 4 | 3 | 3 | 2 | 4 | 3 | 4 | 3 | 2 | 2 | 0 | 1 | 4 | 0 |
| | Glatte weißgelbliche wenig gefaltete Decke | Glatte feuchtglänzende Decke | Weiß gefaltete Decke | Glänzende wenig gerunzelte Decke | Glänzende wenig gerunzelte Decke | Glatte feuchtglänzende Decke | Stark gerunzelte gelbliche Decke | Gerunzelte Decke | Starke gefaltete Decke | Glatte gefaltete weiße Decke | Milchige glatte Decke | Milchige glatte Decke | | Geringe Trübung | Kräftige gelbliche gefaltete Decke | |
| Bacillus phaseoli II von Spargeln | 4 | 4 | 4 | 2 | 1½ | 2½ | 4 | 2 | 4 | 3½ | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 0 |
| | Glatte feuchte, z. T. gesunkene Decke | Decke gesunken | Stark gefaltete gelbliche Decke | Glänzend feuchte gerunzelte Decke | Spärliche Haut | Milchige weiße Decke | Kräftige gefaltete Decke | Zarte kaum gefaltete weiße Decke | Stark gefaltete gelbliche Decke | Stark gefaltete weiße Decke | | | | | Stark gefaltete gelbliche Decke | |

Unterschieden werden konnten die beiden Bacillen nur durch die Art der Deckenbildung, sowie durch ihr Wachstum auf den Gottheilschen Nährmedien. Der Bacillus, welcher von Spargeln isoliert wurde, erinnerte durch seine körnige Decke lebhafter an den Karottenbacillus, als der von Bohnen isolierte.

Bacillus von Champignons = *Bacillus mesentericus vulgatus* Flüge.

Dieser Bacillus bildet 3—4-fach zusammengesetzte ca. 3 μ lange und 0,8 μ breite Stäbchen mit schlängelnder Bewegung und peritrischer Begeißelung. Die Sporen sind großoval, ca. 1 μ lang und 0,8—0,5 μ breit und werden zu ein oder mehreren im Stäbchen gebildet und keimen seitlich. Der Bacillus entfärbt sich nicht nach Gram.

In Agarröhrchen tritt bei Stichkulturen nur oberflächliches Wachstum ein, es entsteht eine etwas gefaltete, weiße, später gelbliche bis graue, glattrandige Ausbreitung.

In Gelatineröhrchen tritt schnell eine strumpfförmige Verflüssigung auf. Auf der verflüssigten Gelatine bildet sich ein zartes Häutchen.

Auf Gemüsebouillon entsteht eine netzartig gefaltete, gelbliche, weiße Decke, die unterstehende Flüssigkeit wird alkalisch und dunkler.

Auf Erbsbrei entsteht eine starke, hohe, glatte, netzartig gefaltete, weiße, später rosa bis braune Decke. Der Erbsbrei wird dunkler.

Auf Gemüse von grünen Erbsen ist die Entwicklung um einiges schwächer, ebenso Spargeln, dann folgt als weniger günstiges Nährsubstrat Bohnengemüse. Am schwächsten ist das Wachstum auf Karottengemüse, auf welchem sich nur eine zarte milchige Haut bildet.

Auf Kartoffelscheiben tritt eine weißgelbliche, später graue

Auflagerung auf, die sich schnell über die ganze Kartoffel ausbreitet. Die Kartoffel wird dunkler, verändert aber ihre Konsistenz ebensowenig, wie die vorgenannten Gemüse.

Auf Karottenscheiben tritt nur eine spärliche, weiße, glänzende Auflagerung auf.

Stärke wird schnell hydrolysiert.

Der Bacillus ist offenbar identisch mit *Bacillus mesentericus vulgatus* (Flügge).

Wachstumsintensität nach 6×24 Stunden bei 25° C in den Gottheilschen Nährmedien.

| | 0 | I | II | III | IV | V | V α | V β | V γ | V δ | VI | VII | VIII | IX | X | XI |
|--------------------------------|---|---------|----|---------|----|---|------------|-----------|------------|------------|----|---------|------|----|---|----|
| Bacillus mesentericus vulgatus | 2 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Zarte Haut | | Trübung | | Trübung | | | Zarte Haut | | | | | Trübung | | | | |

Bacillus von jungen Erbsen = *Bacillus pisi*.

Der fakultativ aërobe *Bacillus* bildet ca. $4,67 \mu$ lange, $0,7 \mu$ breite, oft zu langen Fäden auswachsende Stäbchen von schlängelnder Bewegung, eine Begeißelung wurde nicht beobachtet. Die Sporen sind oval, ca. 1μ lang, $0,8 \mu$ breit und liegen meist zu je einem in einem Ende des Stäbchens, wodurch dieses angeschwollen erscheint. Die Stäbchen entfärben sich nicht nach Gram.

Auf Agarröhrchen bildet sich oberflächlich eine glänzend milchige, weiße, glattrandige, langsam wachsende Kolonie. Längs dem Stich ist das Wachstum gleichmäßig aber spärlich.

In Gelatineröhrchen ist das Wachstum wenig kräftiger, die Gelatine wird nicht verflüssigt.

In Gemüsebouillon tritt Trübung ein und ein weißer Niederschlag, der etwas schleimig ist und sich zu Boden setzt. Die Bouillon bleibt hell, wird aber alkalisch.

Auf Erbsbrei entwickelt sich ein schleimiger, weißer, glänzender Belag. Das Substrat verändert sich nicht.

Auf Erbsengemüse tritt gleichfalls ein weißer Schleim auf, der die Erbsen völlig einhüllt. Die Farbe verändert sich nicht. Auf Gemüse von grünen Bohnen ist die Entwicklung ein wenig geringer, noch spärlicher ist das Wachstum auf Spargelgemüse, am schwächsten auf Karotten, in deren Flüssigkeit nur eine geringe Trübung eintrat.

Die Kartoffelscheiben werden weiß, sehen lockerer aus, zerfallen aber nicht. Es entsteht eine geringe, weiße, glänzende Auflagerung.

Die Karottenscheiben werden gleichfalls heller, schließlich mißfarbig. Die Auflagerung ist sehr spärlich, weißlichgelb.

Von den Gottheilschen Nährflüssigkeiten sagte dem *Bacillus* nur 0 zu, das Wachstum war aber auch hier sehr spärlich, in den übrigen Nährflüssigkeiten konnte eine Entwicklung überhaupt nicht beobachtet werden.

Stärke wurde sehr langsam hydrolysiert. Ein nicht angenehmer Geruch wurde produziert.

Bacillus von Spargeln a. *Bacillus destruens*.

Die ca. 3μ langen, ca. $0,5 \mu$ breiten, oft vielfach zusammengesetzten Stäbchen zeigen schlängelnde Bewegung und besitzen peritriche Begeißelung. Die Bacillen entfärben sich nicht nach Gram. Kleine runde

lichtbrechende Gebilde, die eventuell hätten als Sporen angesehen werden können, keimten nicht.

In Agarröhrchen bildete sich eine gelbliche, glänzende, glattrandige Kolonie. Längs dem Stich fand kein Wachstum statt.

In Gelatineröhrchen tritt schnelle Verflüssigung ohne Hautbildung auf. In der verflüssigten Gelatine setzen sich Flocken nieder

Auf Gemüsebouillon bildet sich eine nur spärliche Haut. Die Bouillon ist trübe, der Niederschlag wenig schleimig.

Auf Erbsbrei bilden sich weiße bis gelbliche, wenig schleimige Flocken. Das Wachstum ist ein kräftiges.

Auf Gemüse von grünen Erbsen tritt gleichfalls starke Flockenbildung auf. Die Erbsen sind schließlich ganz eingehüllt. Nicht weniger kräftig ist das Wachstum auf grünen Bohnen. Die Bohnen werden dunkler. Auf Spargelgemüse bildet sich eine zarte Haut und Trübung. Im Karottengemüse ist die Entwicklung eine sehr schwache.

Auf Kartoffelscheiben tritt eine spärliche weiße Auflagerung ein. Die Kartoffel wird weißlich, kreidig, schmierig.

Auf den Karottenscheiben ist das Wachstum gleichfalls ein sehr geringes.

Stärke wird sehr langsam hydrolysiert.

Gasbildung wurde nicht beobachtet.

Eine irgendwie bemerkbare Geruchentwicklung wurde nicht beobachtet. Alte Kulturen riechen, wie bei allen Bacillen, nach Buttersäure.

Auf den Gottheilschen Nährflüssigkeiten wuchs der Bacillus nicht. In Nährflüssigkeit II trat eine geringe Trübung auf.

Bacillus von Trüffeln. *Bacillus tuberis*.

Von verschiedenen Trüffelkonserven wurden im ganzen 3 Bacillen isoliert, die sich jedoch als identisch erwiesen. Sie bilden ca. $2,7 \mu$ lange, ca. $0,7 \mu$ breite, 2—3-fach zusammengesetzte Stäbchen. Die Stäbchen bewegen sich zeitweise lebhaft und besitzen eine reiche peritriche Begeißelung. Der Bacillus entfärbt sich nach Gram. Die Sporen sind oval, ca. $0,7 \mu$ breit und werden im Inneren der Zelle zu mehreren gebildet.

In Agarröhrchen entsteht um den Stich auf der Oberfläche eine glänzend weiße, milchige, glattrandige Kolonie. Längs dem Stich findet kein Wachstum statt.

In Gelatineröhrchen ist das Wachstum ein gleiches, die Gelatine wird nicht verflüssigt.

In Gemüsebouillon bildet sich ein weißgrauer Niederschlag. Die Bouillon wird allmählich alkalisch, nicht dunkler.

Auf Erbsbrei entsteht ein weißer, milchiger, nicht zäher Schleim. Wenig schwächer ist die Entwicklung auf grünen Erbsen. Auf Bohnen ist das Wachstum noch geringer, ebenso auf Spargeln. Die geringste kaum merkbare Entwicklung findet auf Karottengemüse statt. Die Konsistenz der Substrate wurde nicht verändert.

Auf Kartoffelscheiben entsteht eine glänzend glatte, feuchte Auflagerung, diese wird etwas hellfarbiger.

Auf Karottenscheiben findet kein Wachstum statt.

Stärke wird langsam hydrolysiert.

Gasentwicklung wurde anfänglich wahrgenommen, hört aber nach längerer Kultur in den künstlichen Nährböden auf.

Der Geruch war nicht irgendwie hervortretend.

Von den Gottheilschen Nährmedien eigneten sich nur 0 und I, in welchen gleich kräftiges Wachstum stattfand (Intensitätsziffer $3\frac{1}{2}$).

Aus den obigen Untersuchungen der aus den verdorbenen Konserven isolierten Arten und fakultativaëroben Bakterien lassen sich die gestellten Fragen, ob es für bestimmte Gemüse oder für Konserven überhaupt spezifische Verderber gibt, dahin beantworten, daß, wie schon Aderhold vermutete, eine solche Beschränkung der Flora nicht existiert, sondern daß in Konserven verschiedener Art und Herkunft gleiche Bakterien-species vorkommen und schon bekannte im Wasser und Erdboden lebende Bakterien mit resistenten Sporen das Verderben hervorrufen können. Es wurde sowohl auf selbsteingekochten Karotten, die vom Versuchsfelde der Anstalt, als auch auf Champignons, die aus dem Elsaß stammten, der nicht selten vorkommende *Bacillus mesentericus vulgatus* Flügge gefunden. Auch fand sich auf Spargeln, die gleichfalls vom eignen Versuchsfelde stammten, dieselbe Mittellamelle-lösende, an *B. asterosporus* (Meyer) Migula erinnernde Bacillenart wie auf einer Bohnenkonserven, die aus Norddeutschland eingeschickt wurde. Ebenso waren Bacillen, die von Karotten und solche, die von Erbsen isoliert wurden, identisch. In den aus Norddeutschland stammenden Spargelkonserven fanden sich Bacillen, die in ihrer Form und ihrer Wirkungsweise an die von den Versuchsfeldern isolierten erinnerten, leider waren erstere abgestorben und konnten daher nicht identifiziert werden. Die noch nicht identifizierten oben beschriebenen an bekannte Bakterien erinnernden Species werden vielleicht noch bei weiteren Untersuchungen als tatsächlich bekannte Arten erkannt werden.

Ein besonderes Interesse dürften die Eigenschaften dieser aus den Konserven isolierten Bakterien in Anspruch nehmen. Die eigenartigen Wirkungen der Verderber, welche an den Konserven beobachtet wurden, waren jedoch nicht immer mit der Zersetzungstätigkeit der aus ihnen isolierten Bakterien in Einklang zu bringen. Das gilt nicht nur von der Gas- und Geruchsbildung, sondern besonders von der Resistenz der Bakteriensporen gegen hohe Temperaturen.

In allen eingesandten Konserven war eine starke Gasentwicklung zu bemerken, von den selbsteingekochten Konserven war allein in den Spargeln eine reichliche Gasentwicklung eingetreten, in den Karotten und Erbsen fand keine sichtbare Entwicklung statt. Von den isolierten Bakterien dagegen entwickelten nur die aus den Spargelgemüsen und eine aus Bohnen isolierte Species, die im übrigen mit der einen von den Spargeln isolierten identisch ist, in reichlichem Maße Gas. An den aus Trüffeln isolierten Bakterien wurde nur anfänglich eine einigermaßen lebhaft Gasbildung beobachtet, eine Eigenschaft, die sich jedoch bei länger dauernder Kultur verlor. Bei den am Boden der Gemüsebouillon sich sammelnden Bakterienkonglomeraten sämtlicher untersuchten Bakterien wurden hin und wieder Gasblasen, die die Flocken emporhoben, beobachtet. Es ist nicht unmöglich, daß der Luftabschluß die untergetauchten Bakterien zu einer Gasbildung anregt und daß auch in den Konserven bei den eigenartigen Verhältnissen eine erhöhte Gasproduktion stattfindet. Wahrscheinlicher ist es aber, daß neben diesen nicht gasproduzierenden Bakterien auch gasproduzierende in den Konserven vorhanden waren, diese aber durch ihre Ausscheidungsprodukte, speziell das Gas, eher zu Grunde gegangen waren. Wie in den Spargel-, Karotten- und Erbsenkonserven zwei Arten Bakterien sich vorfanden, wird wohl auch bei den anderen Konserven nicht stets nur eine Species vorhanden gewesen sein.

Unangenehme Geruchsstoffe wurden nur beim Spargelbakterium (*Bacterium asparagi*) und dem von jungen Erbsen bemerkt. Der Mittel-

lamelle-lösende, von Spargeln und Bohnen isolierte *Bacillus* entwickelte wie *Bacillus asterosporus*, an den er vielfach erinnerte, nur angenehme Geruchsstoffe. Bei alten Kulturen sämtlicher untersuchter Bakterien tritt ein intensiver Buttersäuregeruch auf, ein Geruch, der auch fast bei sämtlichen Konserven mehr oder weniger bemerkt werden konnte.

Auffallende Farbveränderungen wurden weder bei den Konserven noch bei den mit den isolierten Bakterien geimpften Gemüsen bemerkt. Die jungen Trüffeln allein zeigten eine geringe rötliche Auflagerung, während der aus ihnen isolierte *Bacillus* keine Farbstoffentwicklung zeigte. Die deckenbildenden Bacillen verfärbten die Gemüse ein wenig und ließen die Flüssigkeit und das Gemüse dunkler erscheinen, sobald die schwach saure Flüssigkeit der Gemüse durch die Tätigkeit der Bakterien in die alkalische verwandelt worden war. Die übrigen Bakterien verwandelten gleichfalls die schwach sauren Nährböden in alkalische, jedoch ohne Farbveränderung. Schleimbildung trat reichlich nur bei dem von Spargeln isolierten *Bacterium asparagi* auf, es wechselte jedoch diese Eigenschaft und schwächte sich bei längerer Kultur ab. Auch die andern nicht deckenbildenden Bakterien, ausgenommen *Bacillus malakofaciens*, zeigten eine wechselnde Intensität in der Schleimbildung.

Auffallend war besonders die mangelhafte Resistenz der Sporen der isolierten Bakterien, obgleich nach den hohen Erhitzungstemperaturen der Konserven auch eine hohe Resistenz der isolierten Bakterien hätte erwartet werden müssen.

Die Sporen der deckenbildenden Bacillen ertrugen, wenn sie auf Erde eingetrocknet waren, bis 6-stündiges Erhitzen auf 100° C, während bei sämtlichen andern Bakterien eine Entwicklung der Sporen nach 3 Minuten langem Kochen in Bohnenbouillon nicht mehr stattfand. Es bestätigt sich somit auch hier wieder die Beobachtung Christens und anderer Forscher, daß die Sporen bei Züchtung im Laboratorium ihre Resistenz verlieren. Eine Erhöhung der Resistenz konnte jedoch dadurch hervorgerufen werden, daß von den Kochungen die resistenstesten Sporen entnommen und auf Agar geimpft wurden, wenn sich wiederum Sporen entwickelten, diese auf Erde zum Trocknen gebracht wurden. Diese Sporen dienten dann zu weiteren Versuchen. Auf diese Weise konnten *B. destruens*-Sporen, die anfänglich nur 2 Stunden Kochen ertrugen, ihr Vermögen, Hitze zu ertragen, auf 6 Stunden erhöhen.

Die Fähigkeit, hohe Temperaturen zu ertragen, ist überhaupt ungleichmäßig veränderlich und hängt von einer Anzahl Momente ab, die daher im Anhang eingehender erörtert werden sollen.

Um auch die Frage, wie sich bekannte Erdbodenbakterien auf Erbsen-, Bohnen-, Spargel- und Karottengemüse verhalten und wie weit sie das Kochen in demselben ertragen, zu beantworten, wurden eine Anzahl bekannter Erdbodenbakterien, deren Reinkulturen vom Kral'schen Laboratorium stammten, in die Gemüse geimpft. Gewählt wurden *B. mesentericus vulgatus* Flügge, *B. mesentericus fuscus* Flügge, *B. megatherium* De Bary, *B. subtilis* (Ehrenberg) F. Cohn, *B. mycoides* Flügge, *B. asterosporus* Migula (Meyer).

Wie die aus den Konserven isolierten Bakterien, wuchsen sämtliche Arten auf Erbsen am üppigsten, die meisten sogar recht kräftig, ausgenommen *B. mycoides* Flügge. Auf Bohnen wuchsen *B. mycoides* und *megatherium* spärlich. Auf Spargeln wuchsen die meisten Bakterien mit Ausnahme von *B. mesentericus fuscus*, *B. mesentericus vulgatus* und *asterosporus* schwach. Auf Karotten wuchs *B. mycoides* gar nicht und die übrigen mit Ausnahme von

B. mesentericus fuscus und **vulgatus** sowie **B. asterosporus** sehr spärlich. Das spärliche Wachstum auf Karotten läßt sich vielleicht aus beistehender Zusammenstellung von Analysen verschiedener Gemüse [nach König¹⁾ zusammengestellt] erklären. Erbsen haben den stärksten, Karotten den geringsten Gehalt an Eiweißsubstanzen.

| | Wasser | Stickstoff-substanz | Fett | Zucker | N-freie Ex-traktivstoffe | Roh-faser | Asche | Stickstoff in der Trocken-substanz | Kohle-hydrate |
|--------------|--------|---------------------|------|--------|--------------------------|-----------|-------|------------------------------------|---------------|
| Erbsmehl | 11,28 | 25,72 | 1,78 | 0 | 57,18 | 1,26 | 3,78 | 4,83 | — |
| Grüne Erbsen | 77,67 | 6,59 | 0,53 | 0 | 12,00 | 1,94 | 0,85 | 4,80 | 55,66 |
| Spargeln | 93,72 | 1,95 | 0,52 | 0,37 | 2,26 | 1,15 | 0,64 | 4,96 | 42,08 |
| Grüne Bohnen | 88,75 | 2,72 | 0,14 | 1,16 | 5,44 | 1,18 | 0,61 | 3,88 | 58,65 |
| Karotten | 87,05 | 1,04 | 0,21 | 6,75 | 2,60 | 1,40 | 1,90 | 1,26 | 42,12 |

Beim Kochen in Erbsen, Bohnen und Spargeln starben die Sporen sämtlicher untersuchter Bakterien mit Ausnahme von **B. mesentericus fuscus**, **B. mesentericus vulgatus** und **B. subtilis**, nach 3 Minuten langem Kochen ab. In Erbsendekokt ertrug **B. subtilis** 2-stündiges Kochen, **B. mesentericus vulgatus** 3-stündiges. **B. mesentericus fuscus** ertrug 15 Minuten Kochen, ging aber nach 30 Minuten Kochen zu Grunde.

In Bohnen- und Spargeldekot keimte **B. mesentericus fuscus** auch nach 15 Minuten Kochen nicht mehr, **B. subtilis** nach 1 Stunde und 50 Minuten noch, in Spargeln nach 1 Stunde und 20 Minuten, **B. mesentericus vulgatus** in Bohnen noch nach 2, in Spargeln nach 1 Stunde und 20 Minuten.

In Karotten keimten Sporen von **B. subtilis** und **B. mesentericus fuscus** nach 10 Minuten und **B. mesentericus vulgatus** nach 45 Minuten noch. Die Resistenz dieser Bakterien schwankt jedoch gleichfalls innerhalb weiter Grenzen und es sind hier nur die höchsten erreichten Temperaturen angegeben. Wahrscheinlich ist es jedoch, daß Sporen dieser Bakterien, falls sie direkt vom Erdboden stammen, viel höhere Temperaturen zu ertragen vermögen, wie das bei dem das Konservieren überlebt habenden **B. mesentericus vulgatus** der Fall gewesen sein muß.

Ueber die verschiedene Resistenz der Sporen.

Wie bereits erwähnt wurde, tritt nicht nur bei bestimmten Gemüsearten, sondern auch in manchen Jahren und in gewissen Gegenden das Verderben von Konserven in größerem Maßstabe ganz unvermutet auf, trotz Anwendung gleicher Kochmethoden. Es wird vielfach angenommen, daß in solchen Jahren und in den betreffenden Gegenden den Gemüsen besonders widerstandsfähige Bakterienarten anhaften. Auch ist von anderer Seite die Vermutung ausgesprochen worden, daß die Zusammensetzung der Gemüse, sowie die Zusammensetzung des zur Verwendung gelangenden Wassers nach Art und Zeit wechselt und dadurch ein leichteres und schwereres Konservieren bedingt wird. Ohne das zeitweise Auftreten von besonders resistenten Bakterienarten zurückzuweisen, läßt sich dieses unvermutete Auftreten von besonders resistenten Keimen allein durch die wechselnde Resistenz von Sporen ein und derselben Bakterienart erklären. Christen beobachtete schon diese wechselnde Resistenz der Sporen an dem roten Kartoffelbacillus *Bacillus mesen-*

1) König, Chemie der menschlichen Nahrungs- und Genußmittel. 1904. 4. Aufl.

tericus ruber Globig. Sporen dieses Bacillus, welche er zu verschiedenen Zeiten auf Papier antrocknen ließ, ertrugen in jedem Fall sehr verschieden hohe Temperaturen. Im ersten Fall, wo die Schnitzel nur kurze Zeit in die sporenhaltige Flüssigkeit getaucht wurden, ertrugen die Sporen 105° C bis 5 Minuten lang, im zweiten Fall, wo die Papierschnitzel längere Zeit in dem Sporenbrei lagen, 105° C bis 2 Stunden lang. Christen machte außerdem die Beobachtung, daß Sporen von Erde resistenter waren, als von andern Medien herkommende, und nimmt nach seinen Versuchen an, daß die Bakterien in der Erde besser genährt werden und daher wohl auch geeigneteres Material zur Bildung resistenter Sporenhäute finden. Auch Duckwall machte die Beobachtung, daß Sporen aus Erde resistenter waren als Sporen von Material, das im Laboratorium gezüchtet wurde.

Esmarch¹⁾ hat versucht, die Ursache dieser Schwankungen in der Resistenz zu ergründen.

Er stellte sich die Fragen, ob die Herkunft der Sporen, das Alter, das Medium, auf welchem und in welcher Stärke die Sporen antrockneten, von Einfluß auf die Resistenz sein könnten. Esmarch experimentierte mit Sporen des Milzbrandbacillus, dessen kritische Temperatur beim Erhitzen in strömendem Dampf zwischen 3 und 12 Minuten Kochen schwankt. Die Sporen wurden auf Seidenfäden angetrocknet und dann in Wasserdampf erhitzt. Es ergab sich, daß weder das Alter, noch das Nährmedium, von welchem die Sporen stammten (Agar oder Kartoffel), noch auch die Stärke, in welcher die Sporen antrockneten und ebensowenig das Material, auf welchem dieselben antrockneten (Plüsch, Seidenzeug, Wolle, Kork und Glas), von irgendwelchem Einfluß auf die Resistenz waren. Sporen derselben Herkunft schienen sich gleich zu verhalten. Zur weiteren Klärung dieser Resistenzfrage sollten die Untersuchungen mit einem widerstandsfähigeren Bacillus wiederholt werden, jedoch mit der Abänderung, daß die Sporen nicht in Wasserdampf erhitzt werden sollten, sondern in flüssigen Nährmedien, welche den Konservenflüssigkeiten ähnelten.

Folgende Fragen sollten beantwortet werden: Hat das Alter reifer Sporen einen Einfluß auf ihre Widerstandsfähigkeit? Oder das Nährmedium, auf welchem die Sporen reifen oder die Schnelligkeit, mit welcher reife Sporen antrocknen oder das Medium, auf welchem Sporen trocknen? Warum sind die Sporen aus Erde resistenter?

Die Versuchsanstellung war folgende: Der Karottenbacillus, *Bacillus daucarum*, dessen Sporen sich als verhältnismäßig widerstandsfähig erwiesen hatten, wurde in viereckige Kulturflaschen auf Agar geimpft und diesen das reife Sporenmaterial entnommen. Das Kochen wurde in ca. 1,5 cm breiten und ca. 16 cm langen Reagenzröhren vorgenommen. Die Nährlösung (5 ccm), womit dieselben beschickt wurden, wurde in so großen Mengen vorrätig gehalten, daß möglichst durch Ungleichheit derselben bedingte Fehler vermieden wurden. Die Nährlösung bestand aus 1 Proz. Liebig's Fleischextrakt, 1 Proz. trockenen Schnittbohnen und dem Leitungswasser der Anstalt. Sterilisiert wurde alle Nährflüssigkeit $\frac{1}{2}$ Stunde bei $\frac{1}{2}$ Atmosphäre. Die Reagenzröhren, die eine gleiche Kochzeit erhalten sollten, wurden mit einer Kappe von Pergamentpapier zusammengebunden. Als Bezeichnung erhielt jedes Röhrchen eine Schlinge eines farbigen Wollfadens, da sich andere Bezeichnungen als hinderlich erwiesen oder abgewaschen wurden. Als Kochapparat funk-

1) Esmarch, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. V. 1888. p. 67.

tionierten vier rechtwinkelig zusammenstoßende, unten offene, oben mit Tubus und Thermometer versehene Blechhülsen, die auf einem mit großmaschigem Drahtnetz bedeckten konstanten Wasserbad aufsaßen. Die vier Blechhülsen waren durch eine gemeinschaftliche Filzhülle bedeckt. Die Reagenzglasbündel, die verschieden lange Kochung erhalten sollten, wurden, wenn der Thermometer 100° zeigte, zugleich in die einzelnen Blechhülsen getan und den einzelnen Hülsen zur bestimmten Zeit entnommen. Die gemeinschaftliche Filzhülle mußte natürlich so groß sein, daß sie sich bequem abheben ließ.

Zur Entscheidung der Frage, ob das Alter von Einfluß auf die Resistenz ist, wurden 2 Versuche angestellt. Beim ersten wurden die reifen Sporen zu verschiedenen Zeiten der Agarfläche entnommen und gekocht, beim zweiten Versuch wurde das Sporenmateriale in trockenen Quarzsand übergeführt und von dort zu verschiedenen Zeiten zum Kochen entnommen. Im folgenden ist je 1 Tabelle, von mehreren ausgewählt, wiedergegeben. Das Resultat war dasselbe wie schon Esmarch es gefunden hatte, es war keine Zunahme noch Abnahme der Resistenz mit dem Alter zu konstatieren.

| Datum | 50' | 1 h 10' | 1 h 30' | 1 h 50' | 2 h 10' | 2 h 20' | 2 h 30' |
|---------|-----|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 4. II. | + | + | — | — | — | — | — |
| 20. IV. | — | — | — | — | — | — | — |
| 24. IV. | + | — | + | — | — | — | — |
| 30. IV. | + | + | — | — | — | — | — |
| 15. V. | — | + | + | — | — | — | — |

| Datum | 1 h 30' | 2 h | 2 h 45' | 3 h | 3 h 30' | 3 h 45' | 4 h |
|-------------|---------|-----|---------|-----|---------|---------|-----|
| 11. XI. 03 | + | + | — | + | + | + | — |
| 11. XII. 03 | — | + | — | + | + | — | — |
| 11. I. | — | — | — | — | — | — | — |
| 11. II. | + | + | + | — | — | — | — |
| 11. III. | + | — | + | + | + | — | — |

Das Zeichen + bedeutet gekeimt.

In zweiter Linie wurde die Frage untersucht, ob das Nährmedium, auf welchem die Sporen ihre Reife erreichten, von Einfluß auf die Widerstandsfähigkeit sein könnte. Wie erwähnt hatte Christen bereits vermutet, daß die Sporen aus der Erde ihre größere Resistenz infolge Bildung einer dickeren Membran in günstigen Ernährungsbedingungen erlangt hätten.

Die Zusammensetzung der angewandten Nährmittel war folgende: 1) 10 Proz. Gelatinebouillon aus 100 Teilen Leitungswasser, 1 g Fleischextrakt und 1 g getrocknete Bohnenschnitzel, 2) 1 g Bohnen auf 100 Teile Leitungswasser, 3) 3 Proz. Agar, 1 Proz. Fleischextrakt in Leitungswasser, 4) Julienbouillon aus 1 Proz. Liebig, 1 Proz. käuflichem getrockneten Juliengemüse und Leitungswasser.

Die Keimung zeigte, daß wohl ein Unterschied bestand und zwar keimten die Sporen von Gelatine am besten, von Bohnen am schlechtesten. Das Wachstum war auch auf Gelatine das kräftigste. Daß aber eine kräftige Ernährung nicht allein die Ursache dieser Erscheinung ist, zeigt ein anderer Versuch, bei welchem das Nährmedium Karottendekokt ohne, mit einem kleinen und mit einem größeren Peptonzusatz versehen war. Die Entwicklung erfolgte auf dem Karottendekokt ohne Zusatz

spärlich, mit wenig Zusatz ebenfalls ziemlich spärlich, mit starkem Zusatz kräftig. Bei der Kochung der reifen Sporen zeigte sich gar kein Unterschied. Es kommt wahrscheinlich bei Bildung der kräftigeren Membranen auf eine zweckentsprechende Ernährung an, welche einseitige Stickstoffnahrung nicht zu bieten vermag.

| | 50' | 1 h | 1 h 20' | 1 h 40' | 2 h | 2 h 10' |
|------------------|-----|-----|---------|---------|-----|---------|
| Gelatine | + | + | + | + | + | + |
| Bohngemüsedekokt | + | — | — | — | — | — |
| Agar | + | + | + | + | — | — |
| Juliennedekokt. | + | + | — | — | — | — |

| | | Versuch mit <i>B. mes. vulgatus</i> auf Karottendekokt | | | | | | | | |
|-----------------|---|--|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | | 5' | 10' | 15' | 25' | 30' | 35' | 40' | 45' | 50' |
| Ohne | 1 | + | + | + | — | — | — | — | — | — |
| | 2 | + | + | + | — | — | — | — | — | — |
| Mit | 1 | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | 2 | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Mit viel Pepton | 1 | + | + | + | — | — | — | — | — | — |
| | 2 | + | + | + | — | — | — | — | — | — |

Auch die Schnelligkeit des Antrocknens konnte von Einfluß auf die Widerstandsfähigkeit der Sporen sein. Sporen, die auf Bohnenbouillon gereift waren, wurden über CaCl_2 , bei 40°C , bei Zimmertemperatur in weiten und engen Reagenzgläsern getrocknet und zur Kochung in Bouillon geimpft. Ein Unterschied konnte nicht wahrgenommen werden.

| | 50' | 1 h | 1 h 20' | 1 h 30' | 1 h 40' | 1 h 50' | 2 h |
|---------------------------------|-----|-----|---------|---------|---------|---------|-----|
| Getrocknet über CaCl_2 | + | + | — | — | — | — | — |
| „ bei 40°C | + | + | + | + | — | — | — |
| „ bei Zimmertemperatur | + | — | — | — | — | — | — |
| „ in weiten Gefäßen | + | — | + | + | — | — | — |
| „ in engen Gefäßen | + | + | — | + | — | — | — |

Es m a r c h untersuchte auch die Frage, ob das Medium, auf welchem die Sporen antrocknen, von Einfluß auf die Widerstandsfähigkeit sein könnte, er kam zu einem negativen Resultat. Die mit Sporen des Karottenbacillus auf verschiedenem Material angestellten Versuche zeitigten ein abweichendes Resultat. Auf Erde, sowohl feuchter als auch trockner, waren die Sporen stets am widerstandsfähigsten. Auf Nickeldraht waren Sporen bei erster Kochung noch widerstandsfähig, bei Benutzung des Drahtes zu einer zweiten Kochung schien der Draht, welcher nicht mehr eine reine Metallfläche zeigte, bactericid zu wirken.

| | 50' | 1 h 20' | 2 h 10' | 2 h 20' | 2 h 30' |
|---------------|-----|---------|---------|---------|---------|
| Seide | + | — | — | — | — |
| Watte | + | + | + | — | — |
| Papier | + | + | — | — | — |
| Kork | + | + | — | + | — |
| Glas | — | + | — | — | — |
| Hollundermark | — | — | — | — | — |
| Erde | + | + | + | + | + |

| | 1 h 15' | 1 h 30' | 1 h 50' | 2 h 10' | 2 h 20' | 2 h 40' |
|----------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Seide | — | — | — | — | — | — |
| Erde | + | + | + | + | + | + |
| Kork | + | + | — | — | — | — |
| Filtrierpapier | — | — | — | — | — | — |

Nicht ohne Einfluß auf die Resistenz der Sporen ist das Medium, in welchem die Sporen erhitzt werden. Die Erfahrung der Konservenindustrie hat gezeigt, daß besonders Erbsen, dann Spargeln und Bohnen schwer zu sterilisieren sind, Karotten dagegen verhältnismäßig leicht. Die Empfindlichkeit der Bakterien gegen nur minimale Mengen mancher Stoffe, wie z. B. der Säuren, ist ja bekannt und macht die Unterschiede in der Resistenz daher verständlich. Der *Bacillus* von Karotten, *Bacillus daucarum*, wurde in Wasser, Bohnen, Erbsen und Karottendekokt gekocht, wobei die Widerstandsfähigkeit der Sporen in Erbsendekokt und die leichtere Sterilisierbarkeit in Karottendekokt bestätigt wurde. Eine von den Versuchstabellen wurde ausgewählt.

| | 50' | 1 h | 1 h 20' | 1 h 40' | 1 h 50' | 2 h |
|----------|-----|-----|---------|---------|---------|-----|
| Wasser | + | + | — | + | — | + |
| Bohnen | + | + | — | — | — | — |
| Karotten | + | — | + | — | — | — |
| Erbsen | + | + | + | + | + | + |

Von *Bacillus subtilis*, *Bacillus mesentericus fuscus* und *vulgatus* waren schon oben dieselben Tatsachen angegeben worden. Es warfen sich die Fragen auf, worauf die leichtere Sterilisierbarkeit der Karotten beruht. Es wurde vermutet, daß der geringe Nährstoffgehalt des Karottendekoktes die Ursache sein könnte und daß die durchs Kochen geschwächten Sporen nicht mehr die Kraft fänden, in diesem Medium zu keimen. Es wurde daher dem Karottensaft in einem Fall Fleischextrakt zugefügt und Sporen von *Bacillus mesentericus vulgatus* (von Bohnen gezüchtet) eingimpft, es zeigte sich kein Unterschied.

| | 30' | 50' | 1 h 05' | 1 h 20' | 1 h 35' | 1 h 50' | 2 h 05' | 2 h 30' | 2 h 40' | 2 h 50' | 3 h |
|-------------------------|-----|-----|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|-----|
| Mit Fleischextrakt } 1 | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — | — |
| Mit Fleischextrakt } 2 | + | + | + | + | + | + | — | — | — | — | — |
| Ohne Fleischextrakt } 1 | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — | — |
| Ohne Fleischextrakt } 2 | | | | | | | | | | | |

Versuch mißglückt.

Es konnte angenommen werden, daß vielleicht der höhere Säuregrad der Karotten im Vergleich zu den Erbsen die Ursache der leichteren Sterilisierbarkeit ersterer sein könnte. Es wurde daher durch geringen Alkalizusatz neutralisiert. Das Wachstum war in dem Karottensaft ohne Alkalizusatz kräftiger, als im neutralen und die Sporen starben im letzteren beim Kochen schneller ab.

Es war bei Karotten häufiger als bei den andern Gemüsen die Beobachtung gemacht worden, daß in mehrfach sterilisierten sowie in höheren Temperaturen sterilisierten Karotten, Bacillen, die sonst leicht keimten, überhaupt nicht mehr wuchsen. Es wurde vermutet, daß der Rohrzucker der Karotten durch die Hitze karamelisiert wurde und dadurch antiseptisch wirkte. Jedoch zeigte sich bei Versuchen mit selbsthergestelltem Karamel, daß die Bacillen nicht sehr empfindlich dagegen waren, und daß

wahrscheinlich andere Zersetzungsprodukte die Ursache sein müßten. Eine definitive Antwort läßt sich somit auf die Frage betreffend die leichtere Sterilisierbarkeit der Karotten nach dem Versuch bisher nicht geben.

Die Frage, warum die Erde besonders widerstandsfähige Keime liefert, konnte gleichfalls nicht beantwortet werden. Reife Sporen auf feuchte und trockene Erde zum Trocknen gebracht, zeigten keinen wesentlichen Unterschied in der Keimung, nach dem Kochen keimten erstere nur schneller aus. Ebenso war kein Unterschied zu bemerken, wenn noch nicht reife Sporen auf fette und magere Erde gebracht wurden und dort trockneten. Die Arbeiten mußten vorzeitig wegen der ungeeigneten Räume abgebrochen und können erst im neuen Institut fortgesetzt werden.

Entsprechend den Untersuchungen von Esmarch wurde im Gegensatz zu Duckwall konstatiert, daß weder das Alter der Sporen, noch das mehr oder wenige schnelle Antrocknen der Sporen von Einfluß auf ihre Resistenz ist. Dagegen wurde beobachtet, daß eine Reihe anderer Momente in Betracht kommen, so vor allem das Medium, auf welchem die Sporen erwachsen, auf welchem sie angetrocknet sind und in welchem sie der Hitze ausgesetzt werden.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Kenntnis der Gattung Synchytrium.

[Aus dem botanischen Institut Bern.]

(Vorläufige Mitteilung.)

Von **Walther Rytz.**

Die Gattung Synchytrium zählt heute schon über 50 Arten, von denen aber kaum die Hälfte entwicklungsgeschichtlich bekannt ist. Dies gilt ganz besonders für die Gruppe der Pycnochytrien, die keine Sommer-sporangien besitzen. Nun habe ich auf Veranlassung von Herrn Prof. Ed. Fischer einige Synchytrien untersucht und für drei zum Teil bekannte Arten die Keimungsverhältnisse feststellen können.

Synchytrium alpinum Thomas.

In Wasser überwinterte Sporen wurden auf einem Objektträger in die feuchte Kammer gebracht und es zeigte sich am nächsten Tage bei zwei kleinen Sporen eine Sorusbildung. Die beiden Sori hafteten nur an einem Punkte an den leeren, kaum geschrumpften Sporenhäuten. Grösse der Sporenhäute: $48:69 \mu$. Durchmesser des kugeligen Sorus: 63μ . Der Inhalt bestand aus ungefähr 30—40 Sporangien mit grauem Inhalt von einer durchschnittlichen Größe von $15-18 \mu$ im Durchmesser. Eine Weiterentwicklung fand nicht statt.

Synchytrium cupulatum Thomas.

Von überwinterten infizierten Pflanzen, die in Kistchen verpflanzt worden waren, holte ich im Februar einige Sporen unter dem Schnee hervor und da zeigten sich bereits einige ausgekeimte Sori. Ebenso fand ich im März unter den gleichen Bedingungen Sporangienkugeln. Die Sporen ruhen im Grunde einer papillenartigen Nährzelle, in deren Inhaltsresten eingebettet. Bei der Reife springt der obere Teil der Papille

deckelartig ab, so daß die Spore nun in einem Becher ruht. Bei der Keimung tritt der Sorus in den oberen, nach außen mündenden Teil der Nährzelle. Größe der kugeligen Sori 120—140 μ im Durchmesser. Ein Sorus enthielt ca. 30 Sporangien von 30—36 μ Durchmesser und mit goldgelbem Inhalt. Auch hier kam es nicht zur Zoosporenbildung.

Synchytrium Saxifragae nov. spec. ad int.

Dieser Pilz kommt hauptsächlich auf *Saxifraga aizoides* vor. An denselben Standorten (Kiental, Berner Oberland) fand ich auch auf *Saxifraga stellaris*, *varians* und *androsacea*, ferner auf *Androsace chamaejasme* und *Ranunculus montanus*? ein *Synchytrium*, das mir mit dem auf *Saxifraga aizoides* beobachteten identisch zu sein scheint. Nährzelle vom Pilz nicht ganz ausgefüllt, meist in die darunter befindlichen Gewebepartien eingesenkt. Epidermiszellen der Umgebung nicht oder nur wenig größer als die normalen, deshalb keine eigentliche Warzenbildung. Der Inhalt der Nährzelle die Spore als Kruste oft mehr oder weniger überkleidend. — Ich hielt infizierte Stengel und Blätter den Winter über in Wasser, das mehrmals gewechselt wurde. Im Februar und März fand ich einzelne Sori. Dieselben hingen nur an einem Punkte mit der Sporenhaut zusammen und hier konnte deutlich eine Oeffnung wahrgenommen werden, durch welche der Sorus mit der Spore in Verbindung steht; sie hatte die Form eines Doppelkreises von 3 bzw. 6 μ Durchmesser. Durch die Zerklüftung entstehen 110—200 Sporangien mit goldgelbem Inhalt. Dauer孢oren 90—160 μ (im Mittel 130 μ) im Durchmesser, kugelig bis ellipsoidisch; Exospor spröde, braun, 3—6 μ dick; Endospor farblos, zäh, 3 μ dick. Sori 90—165 μ (110 μ) Durchmesser, mehr oder weniger kugelig. Sporangien 15—21 μ (15—18 μ) Durchmesser.

Diese Species ist vom typischen *S. aureum* Schroet. hauptsächlich durch die geringe Warzenbildung, geringere Größe der Sori (bei *aureum* 129—287 μ) und kleinere Sporangien (bei *aureum* 17—31 μ [21—24 μ meistens]) verschieden; aber erst Infektionsversuche werden definitiv entscheiden können, ob hier eine von *S. aureum* verschiedene Species vorliegt.

Bern, im März 1906.

Inhalt.

- | | |
|--|---|
| <p>Miehe, Hugo, Betrachtungen über die Standorte der Mikroorganismen in der Natur, speziell über die der Krankheits-erreger, p. 430.</p> <p>Nathan, Leopold, Ueber den Einfluß der Metalle auf gärende Flüssigkeiten, p. 482.</p> <p>Rahn, Otto, Ueber den Einfluß der Stoffwechselprodukte auf das Wachstum der Bakterien, p. 417.</p> | <p>Rahn, Otto, Nachtrag zu der Literaturzusammenstellung über die Zersetzung der Fette, p. 488.</p> <p>Regensburger, Paul, Vergleichende Untersuchungen an drei obergärigen Arten von Bierhefe. (Schluß), p. 438.</p> <p>Ryts, Walther, Beiträge zur Kenntnis der Gattung <i>Synchytrium</i>, p. 511.</p> <p>von Wahl, C., Ueber Verderber von Gemüsekonserven, p. 489.</p> |
|--|---|

Zusammenfassende Uebersichten.

Nachdruck verboten.

Die Gärung des Mehlteiges.

Zusammenfassende Uebersicht von Dr. A. Maurizio,
Assistenten und Privatdozenten in Zürich.

Schon im Altertum war die Gewinnung alkoholischer Getränke aus Cerealien, wie auch die Benutzung des Sauerteiges bekannt. Von der Bibel abgesehen, lassen einige Literaturangaben von Kobert (p. 2—5) die Deutung zu, daß in jenen Zeiten neben dem Sauerteig noch eine andere Hefe, nämlich die aus der gärenden Maische gewonnene, im Gebrauche war. Nach Koberts Zitat berichtet nämlich Plinius von den Galliern und Spaniern, sie hätten zum Brotbacken nicht Sauerteig verwendet, sondern eine Art verdichteten Schaumes, welcher bei der landesüblichen Darstellung eines Getränkes aus Getreidearten als Nebenprodukt abfällt.

Ein solches Getränk erwähnt Parmentier (I), der erste Forscher, welcher wissenschaftlich mit der Teiggärung sich beschäftigt. Die gebildete alkoholische Flüssigkeit nannte Parmentier Oxykrat. Sie sei von angenehm weinartigem Geruch und werde von armen Landleuten während der heißen Jahreszeit konsumiert. Ihre Darstellung ist folgende: Es wird Kleie gekocht, durch ein Tuch filtriert und die Flüssigkeit mit einem 8 Tage alten Sauerteig versetzt und dann in Fässern aufbewahrt. Auch auf experimentellem Wege suchte Parmentier (II) den Gegenstand zu ergründen. Er kam hierbei zu gleichen Schlüssen wie Malouin († 1778 als professeur au Jardin du Roi), dessen Schriften dem Referenten unbekannt sind. Parmentier unterwarf 6 Pfund Sauerteig, der mit Wasser verdünnt war, der Destillation und überzeugte sich, daß das zuerst übergehende Produkt weingeisthaltig und entzündlich war.

Die erste vollständige Theorie der Teiggärung stellte Dumas auf. Nach Dumas findet durch das Anrühren des Mehles mit Wasser eine Quellung der Stärke und des Klebers, Lösung des Zuckers, des Albumins und anderer Substanzen statt. Die nachfolgende Knetung schafft die Grundlagen für die Gärung, indem durch sie Hefe in die Nähe des Zuckers gelangt; auch die übrigen Manipulationen, die vor dem Backen ausgeführt werden, begünstigen die Gärung. Der in Brotform gebrachte Teig wird bei erhöhter Temperatur zugedeckt aufbewahrt, unter Umständen, welche „die Entwicklung der Gärung“ befördern. Das Volumen des Teiges nimmt nach und nach zu, denn an allen Punkten, an denen das gasförmige Produkt der Zuckerzersetzung, die Kohlensäure, auftaucht, wird es von einer halbfüssigen Masse, deren Elemente der Kleber zusammenhält, eingeschlossen. Die Kohlensäure sammelt sich in allen Höhlen des Teiges gleichmäßig an und vergrößert sie. Die plötzliche Temperaturzunahme im Ofen dehnt das eingeschlossene Gas aus und bringt die Gärung zum Stillstande. Die Gärung einer kleinen Zuckermenge ist die notwendige Begleiterscheinung der Brotbereitung;

die Menge ist so klein, daß sie sich dem Nachweise entzieht. Dumas setzt voraus, daß die gebildete Kohlensäure im Brote verbleibe und daß sie nach erfolgtem Backen bei 100° ungefähr die Hälfte des Brotvolumens bilde. Er folgert daraus, daß nur $\frac{1}{100}$ des Mehlgewichtes an Zucker zur Produktion eines gut ausgebackenen Brotes nötig sei. Die Teiggärung wird also durch ihn ausschließlich auf Alkohol- und Kohlensäurebildung aus dem im Mehle vorhandenen Zucker zurückgeführt.

Diese klare und in Bezug auf den Gärungsvorgang des Teiges, der mit verschiedenen Arten von Hefe angemacht wurde, auch zutreffende Ansicht, hatte leider nicht genügende Beachtung gefunden. Es waren besonders einige Angaben von Mège-Mouriès in den Jahren 1853—1860, welche eine arge Verwirrung anrichteten, woran die Kommission der Akademie mitschuldig war. Sonstiges berichtet L. Boutroux p. 97 und H. Hager und E. Holdermann p. 486. Mège-Mouriès findet in der Kleie eine lösliche stickstoffhaltige Substanz, die er „Céréaline“ nennt, welcher die Eigenschaft zukommt, Stärke in Dextrin, dieses in Traubenzucker, den Zucker in Milchsäure, nach längerer Einwirkung in Buttersäure überzuführen. Die weißen Mehle enthalten nur wenig Céréaline, dafür besitzen sie Kasein und Kleber, welche auf die Stärke als Fermente zu wirken im stande wären. Dem Kleber komme dabei die Hauptrolle zu, da er Stärke in Dextrin und Traubenzucker, diesen dann in Alkohol und CO₂ spalte.

Obgleich schon im Jahre 1872 Engel die Teiggärung der Wirkung bestimmter Heferasen, besonders seinem *Saccharomyces minor* zuschrieb, fehlte es nicht an Versuchen, die Teiggärung auf die Wirkung von Bakterien zurückzuführen. Wigand nahm bekanntlich die spontane Entstehung der Bakterien aus Eiweißstoffen, den Muskeln etc. an. Sein *Bacterium farinaceum*, welches spontan aus dem Kleber sich bilden soll, wurde von ihm als der Gärungsorganismus des Teiges bezeichnet. Auch Chicandard I—III war der Ansicht, diese Gärung werde nicht durch Hefen, sondern durch Bakterien verursacht, im speziellen durch einen Bacillus, der normalerweise sich stets im Teige vorfinde. Die anwesende Hefe dient nur dazu, die Gärung zu befördern, welche der Hauptsache nach in der Umwandlung der unlöslichen Eiweißstoffe in lösliche bestehen soll. Seine übrigen Auseinandersetzungen sowie die Resultate der wenig zuverlässigen Analysen der Gärungsprodukte ist unnötig zu erwähnen. Marcano äußerte ähnliche Ansichten; nicht die Hefe sei der Erreger, sondern eine „Sphaerobakterie“. Das Vorkommen von Fällen des fadenziehenden Brotes in Belgien gab Laurent die Veranlassung, sich mit dem Gegenstande zu beschäftigen. Er findet auf der Oberfläche der Cerealien einen Bacillus (*Bac. panificans*), der während der Vermahlung ins Mehl gelangt, sich im Teige vermehrt und CO₂ entwickelnd, diesen hebt. Es werden ihm alle Wirkungen des Sauerteiges (levain) wie der Dauerhefe (levain conservé) zugeschrieben. Der Organismus sei auch im stande, die Stärke des Brotes anzugreifen und das Schleimigwerden desselben zu bewirken u. a. m. Moussette macht gegen Chicandard geltend, daß im Sauerteige Alkohol sich vorfinde. Er bestimmt die Alkoholmenge, den schon von Parmentier ausgeführten Versuch wiederholend. Das Gleiche tat etwas später Girard in exakter Weise, wie weiter unten noch erwähnt wird. Auf Grund der Analysen vertritt dieser Forscher die Ansicht, die Teiggärung sei eine reine alkoholische Gärung.

Die Widersprüche in den Arbeiten der verschiedenen hier genannten Forscher faßt Duclaux (I) dahin zusammen: Die wichtige Frage der Brotgärung „est à reprendre depuis ses origines“. Weniger begreiflich ist seine weitere Bemerkung, er hätte im gärenden Teige aus Weizenmehl keinen Alkohol gefunden. Noch im Jahre 1901 äußert sich der Verfasser (II) noch sehr abschätzig über die bisherigen Arbeiten auf diesem Gebiete. Es ist in der Tat recht schwer gewesen, in den stark divergierenden Ansichten irgend einen Fortschritt zu erblicken. Diesen Zustand beurteilte Flüge ganz ähnlich: man kennt weder die Ursache, den Verlauf, noch die Resultate der Teiggärung und es ist sehr zu wünschen, daß die moderne Forschung mit dem ihr zur Seite stehenden Apparate die ganze Frage einer definitiven Prüfung unterwerfe. In den letzten 15 Jahren sind denn auch große Fortschritte in der Beziehung zu verzeichnen.

Die Teiggärung kann man etwa in folgende Arten einteilen: 1) Bereitung des Gebäckes ohne Gärung des Teiges, wie sie in den jüdischen Mazes (Mazoth) vorliegt. 2) Spontane Gärung des Teiges. Sie wird verursacht durch die im Mehle vorhandenen gasbildenden Bakterien. 3) Teiggärung mit Zusatz von Sauerteig, sowie Anwendung ganz alten Sauerteiges oder lange Zeit gärenden Teiges der Lebkuchenbereitung. 4) Anwendung der Preßhefe, der Bierhefe, der Melassehefe oder des Sauerteiges mit Zusatz von Preßhefe. 5) Versuchsweise Benutzung der Hefereinkulturen in der Brotbäckerei.

Diese Uebersicht zeigt, daß die verschiedenen Typen der Gärung ineinander übergehen. Sie lassen sich darum auch in der Besprechung nicht streng scheiden.

Spontane Gärung und Verwandtes. Es kommen in der Bäckerei, welche den Teig der „Selbstgärung“ überläßt, nur die Gase oder Säuren bildenden Organismen des Mehles in Betracht. Die gaserzeugenden sind am besten bekannt, während die eigentlichen Säurebildner des näheren Studiums harren. Die letzteren sind gleichfalls von großer Bedeutung für alle Vorgänge, die im lagernden Mehle stattfinden.

Dünninger gibt sich Mühe, das Cerealin im Auszuge zu erhalten. Er schreibt ihm die Eigenschaften eines diastatischen Enzyms zu von energischer Wirkung. Im übrigen hält er die Brotgärung für eine Alkoholgärung, ob man nun als Lockerungsmittel Hefe, Lab oder Sauerteig verwendet; als „einzig wesentlicher Gärorganismus ist die Sproßhefe zu betrachten. Als Gärmaterial dient derselben die Maltose, welche aus einem Teil der Stärke des Mehles unter Einwirkung des Cerealins entsteht“. Obgleich Dünninger die Bakterien für entbehrlich als eine unnötige Verunreinigung in der normalen Brotgärung ansieht, kennt er wohl die Säureproduktion derselben. Er fand einige Arten Bakterien: Milchsäurebakterien, solche, die im Sauerteig vorkommen u. a. m., die jedoch nicht genügend gekennzeichnet sind.

Dünninger bemerkt keine gasbildenden Bakterien im Teige. Die weiteren Fortschritte lassen sich im Zusammenhange mit den wichtigen Arbeiten am besten erörtern, welche wir dem Institute von K. B. Lehmann in Würzburg verdanken. Nach den Untersuchungen von Lehmann und Wolffin existiert im Sauerteig neben einer Hefe nur ein einziger Mikroorganismus, der Gas bildet, ein Bakterium. Er gehört der Gruppe des *Bacillus coli commune* an und erzeugt während der Teiggärung 68—71 Proz. CO₂ und 29—32 Proz. H₂, wodurch er das Aufgehen des Teiges veranlaßt. Der Organismus wird

isoliert aus dem in üblicher Weise hergestellten Mehlteig. Läßt man diesen in sterilisierten Gefäßen über Nacht bei 37° C stehen, so findet ein starkes Aufgehen statt, wie es bei Zimmertemperatur erst nach 24—36 Stunden erreicht wird. Die mikroskopische Prüfung stellt fast eine Reinkultur eines Bacillus fest und fast vollständige Abwesenheit der Hefe. Die Methode führt leichter zum Ziele als die in der Bakteriologie angewandte. Man muß nämlich viele Platten gießen, um einige Kolonien zu erhalten; die anderen Bakterien entwickeln sich üppig zum Nachteil des Hauptbakteriums. Unter diesen soll sich keine gasbildende Art befinden, während einige säurebildend sind.

Um die in zuckerhaltigen Flüssigkeiten überwuchernde Hefe an der Vermehrung zu hindern, kann hier, ähnlich wie im Studium des Sauersteiges, folgende Methode angewandt werden: es genügt etwas Mehl der Zuckerbouillon zuzusetzen, sie im Brutschranke kurze Zeit stehen zu lassen, um eine starke Trübung und Gärung zu erzielen. Durch entsprechende weitere Behandlung gewinnt man die Reinkultur eines Bacillus der Coli-Gruppe. Der Organismus ist für sich allein im stande, eine regelrechte Teiggärung, wie sie zum Verbacken nötig ist, durchzuführen. Es kann hier nicht die Beschreibung dieses Bacillus gegeben werden. Für vorliegende Zwecke genüge folgendes: der Bacillus ist fakultativ anaërob und kann in reiner CO₂-Atmosphäre leben, er wächst am besten in neutraler oder schwach alkalischer, weniger gut in saurer Gelatine. Die wichtigste Eigenschaft des Bacillus ist die Gasbildung. Die Gasanalysen ergaben folgende Resultate in den verschiedenen Nährsubstraten:

| | In 10-proz. Zuckerbouillon | | | Bierwürze | Verdünnte Bierwürze | Zuckerfreie Bouillon |
|-------------|----------------------------|------|------|-----------|------------------------|-------------------------|
| | I | II | III | IV | V | VI |
| Kohlensäure | 68,9 | 66,8 | 63,7 | 68,4 | 63,8 | 0 Volumprocente |
| Wasserstoff | 25,4 | 28,7 | 31,8 | 22,1 | 28,7 | 67,1 „ |
| Stickstoff | 5,7 | 4,5 | 5,5 | 9,2 | 7,5 | 32,9 „ |

Die Bestimmung der Gase ist von hohem Interesse. Damit ist bewiesen, daß dieser Organismus der Coli-Gruppe in Medien, die wenig Zucker enthalten, ein großes Gasvolumen zu erzeugen im stande ist. Freilich sind noch verschiedene Umstände zu klären, gasanalytisch genauer zu erforschen und an Versuchen, die nur in der Praxis ausführbar sind, zu bestätigen. Der Bacillus bildet auch Säuren, es kommen auf 1000 ccm der Gärungsflüssigkeit 0,84 g Essigsäure und 0,20 g Milchsäure. Andere Säuren, wie etwa Ameisensäure und Buttersäure, konnten nicht nachgewiesen werden. Der Organismus wird durch eine Temperatur von 60° C in 10 Minuten getötet. Er bildet während der Teiggärung Kohlensäure, Wasserstoff und Stickstoff. Dieser Bacillus der spontanen Teiggärung wurde von Wolffin *Bac. levans* genannt.

Mit der Erforschung der wirksamen Organismen des Sauer- und Preßhefeteiges beschäftigt, hatte Papasotiriu zu erfahren gesucht, ob *Bac. levans* auf der Oberfläche der Körner sich vorfinde oder erst später ins Mehl gelange. Die ohnehin wenig versprechenden Experimente ergaben keine übereinstimmenden Resultate.

Im übrigen bestätigt Papasotiriu in Uebereinstimmung mit Fränkel die Befunde Wolffins und Lehmanns; beide Forscher

stellen die stetige Anwesenheit des *Bac. levans* fest, nicht nur im Schwarzbrotteige, sondern auch im Hefeteige. Der Organismus scheint jedoch im ersteren in größeren Mengen vorzukommen. Im chemischen Verhalten unterschied sich der von Fränkel isolierte *Bac. levans* insofern vom Wolffinschen, als er Indol erzeugte und in der Milch Koagulation bewirkte, sonst aber die gleichen gelben Kolonien Wolffins bildete. Entgegen diesen Untersuchungen, welche im wesentlichen die Angaben Wolffins bestätigen, findet Holliger, daß in spontan gärendem Teige zwei Bakterien als Ursache des Aufgehens anzusehen seien. Die eine sei identisch mit *Bac. levans* und erzeuge farblose Kolonien, die andere durch gelbe Kolonien gekennzeichnete, sei vorläufig als neu zu betrachten. Holliger findet auch etliche Unterscheidungsmerkmale zwischen *Bact. coli* und dem *Bac. levans*.

Von anderen Forschern wurden einige Organismen behandelt, die in der Teiggärung von Bedeutung sind. Da sie den Mikroorganismen Lehmanns und seiner Schüler und denjenigen Holligers nahe stehen, soll auf sie kurz hingewiesen werden. *Bac. levans* besitzt einige Eigenschaften der von Laurent und Popoff studierten Bacillen. Der Laurentsche *Bac. panificans* ist im Mehle regelmäßig vorhanden, wird aber erst bei 100° in 10 Minuten getötet. Häufig überdauert er die Backtemperatur. Er entwickelt im Teige Kohlensäure, Essig- und Milchsäure, außerdem Buttersäure, bildet aber weder Wasserstoff noch Stickstoff. Es ist zu bezweifeln, ob dem Verfasser eine Reinkultur vorlag. Vielleicht ist sein Mikroorganismus identisch mit *Bac. mesentericus vulgatus*, über den andere gründlichere Untersuchungen vorliegen.

Der Organismus von Popoff ist in Bezug auf Säurebildung ungenügend bekannt. Er ist jedenfalls dem *Bac. levans* sehr nahe verwandt. Popoff war es möglich, durch ihn Teiggärung zu bewirken und aus dem gegorenen Teige Brot zu bereiten. Es ist aus der Arbeit Popoffs nicht zu entnehmen, ob sein Bacillus von Teig zu Teig kultivierbar ist — der wichtigste Umstand in der Teiggärung.

Peters beschreibt fünf Mikroorganismen des Mehles, die aber nachweislich in der Teiggärung mit Ausnahme eines einzigen, des von ihm *Bac. C* genannten, keine Rolle spielen. *Bac. C* scheint mit *Bac. levans* identisch zu sein. Der Verfasser beachtet in seinen Studien die Gasbildung nicht. Auch Dünneberger hatte außer der Sproßhefe keinen weiteren Gasbildner im Teige gefunden. Die übrigen Resultate der Arbeit dieses Autors wurden schon erwähnt.

Die verschiedenen von Boutroux I und II aus dem Teige gewonnenen und kultivierten Bakterien ermangeln einer genügenden Charakteristik sowohl in morphologischer als in chemischer Richtung.

Bac. levans des Instituts Lehmanns hat die meiste Ähnlichkeit mit *Bac. coli commune*. Der letztere steht dem Typhusbacillus sowie einem in den Faeces konstant anzutreffenden Organismus sehr nahe. *Bac. levans* und *Bac. coli commune* sind morphologisch gleich. Wolffin unterzog sie einer genauen Vergleichung. In 10-proz. Zuckerbouillon bilden beide Arten Gase von folgender Zusammensetzung:

| | <i>Bac. levans</i> | <i>Bac. coli commune</i> |
|-------------------|--------------------|--------------------------|
| CO ₂ : | 66,5 | 22,3 Volumprocente |
| H ₂ : | 28,6 | 75,6 „ |
| N ₂ : | 4,9 | 2,1 „ |

Es zeigen sich noch weitere Unterschiede in der Vergärung bestimmter Zuckerarten, der Milchkoagulation u. a. m., worauf hier nicht einzugehen ist. Von Wichtigkeit ist, daß beide Arten „steriles Mehl“, das mit sterilem Wasser zu Teig verarbeitet wurde, im stande waren, zum Aufgehen zu bringen. Die hierbei entstandenen Gase unterschieden sich in der Zusammensetzung ganz gleich wie diejenigen in Kulturen von Zuckerbouillon erzeugten. Ueber die Art der Sterilisierung des Mehles und die sonstige Anordnung des Versuches gibt die Arbeit Wolffins ausführliche Auskunft. Die folgende Tabelle bestätigt das Gesagte; die Gase der Mehlteigkulturen hatten die Zusammensetzung:

| | Bac. levans | | Bac. coli commune | |
|-------------------|-------------|------|-------------------|---------------|
| | I | II | III | Volumprocente |
| CO ₂ : | 67,6 | 66,5 | 22,3 | „ |
| H ₂ : | 26,6 | 27,7 | 74,0 | „ |
| N ₂ : | 5,8 | 5,8 | 2,7 | „ |

Holliger hatte leider keine Gasanalysen ausgeführt, was um so mehr zu beklagen ist als er zum Schlusse kommt, daß sein Bacillus in Gemeinschaft mit dem Bac. levans im Teige spontan die Gärung verursacht. Die Bemerkungen, welche die Morphologie, Beweglichkeit und sonstige Merkmale betreffen, können wir übergehen. Es ist schließlich ohne Bedeutung, ob Bac. levans zu coli gehört. Genaue Gasanalyse fehlt. Zudem soll der Organismus, den dieser Forscher gefunden, wenn er auch weniger Gase liefert als Bac. levans, gleichfalls für sich allein sterilen Mehlteig vergären — eine empfindliche Lücke.

Holliger hatte sich begnügt, die Zusammensetzung der erzeugten Gase im Eichhornschen Gärröhrchen annähernd zu bestimmen. Der gleichen Methode bedient sich auch Levy in einer später erschienenen Arbeit aus dem Würzburger Institute. Levy polemisiert gegen einige Auffassungen Holligers. Von Interesse ist hier das Verhältnis der Gase, wie es in den Arbeiten Wolffins, Holligers und Levys ermittelt wurde. Das ungefähre Verhältnis des durch 10-proz. KOH absorbierten Gases (CO₂) zum nichtabsorbierten (H₂) war folgendes:

Wolffin. Für Bac. levans CO₂:H₂ = 3:1 bis 2:1, für Bac. coli 1:3, wie es ähnlich auch sonst in der Literatur angegeben wird.

Holliger. Für Bac. levans 2:1, für Bac. coli 1:2, wobei Bac. levans hier 2 Organismen umfaßt, weiße und gelbe Kolonien bildende, d. h. den levans Wolffins und den neuen Holligers.

Levy. Die Stämme Levys: der typische Bac. coli, ein Bac. coli albidoliquefaciens und luteoliquefaciens, die alle drei den Mehlteig zu heben im stande sind, zeigen ein Verhältnis von CO₂:H₂, wie es in der Literatur für coli angegeben wird. Für levans fand aber dieser Forscher kein konstantes Verhältnis, indem CO₂:H₂ 5-mal etwa gleich 1:1, 5-mal größer, 7-mal kleiner als 1 war.

Bis auf weiteres nimmt Levy, auf Grund dieser Resultate, die Existenz von zwei verschiedenen Levantypen an: Bacterium levans α , identisch mit Bact. coli commune, der Gelatine nicht verflüssigt, und ein Gasverhältnis CO₂:H₂ = 1:3 bis 1:1 zeigt, sowie Bacterium levans β Typus Holliger der Gelatine verflüssigt, und CO₂ nebst H₂ im Verhältnisse 1:1 bis 2:1 bildet.

Levy selbst macht jedoch gegen diese Scheidung Einwendungen, es sei der Unterschied zwischen den beiden Typen α und β kein strenger,

es liege vielmehr in diesen Organismen eine kontinuierliche Reihe mit allmählichem Uebergang vor.

Trotz einiger Widersprüche scheint durch diese Forschungen in einwandfreier Weise bewiesen zu sein, daß *Bac. levans*, andere Glieder der *Coli*-Gruppe und das *Bac. coli*, also die „Typen“ Wolffins, Holligers und Levys, eine Teiggärung hervorrufen, die spontane Gärung des Teiges. Sie ist eine schwache alkoholische Gärung.

Bac. levans von Wolffin vermag in Medien, welche 5 Proz. C_2H_5OH besitzen, den Zucker nicht zu vergären.

Es müssen aber Reduktionsprozesse die Gärung begleiten. Wir sind über dieselben und den ganzen Chemismus der spontanen Gärung noch mangelhaft unterrichtet. Es wäre von großem Interesse zu ermitteln, welches Volumen ein Brot erreicht, dessen Teig mit Reinkulturen der genannten Organismen hergestellt würde. Der Vergleich mit der Sauerteig- und der Preßhefegärung müßte mit solchen Versuchen verbunden werden.

Sauerteiggärung. Als Sauerteig bezeichnet man einen dünnen Mehlteig, der mehrere Stunden an einem warmen Orte lag und in dem eine reiche Flora von Mikroorganismen sich entwickelte. Er wird nach wiederholter Auffrischung benutzt; er reagiert sauer und besitzt einen weinsäuerlichen Geruch. Ein zurückgelegtes Stück Teig pflanzt den Sauer fort. Geht einem Bäcker der Sauer aus, so holt er ihn mit Vorliebe von einem anderen. Die mikroskopische Untersuchung zeigt eine Anzahl Bakterien und zwar Kurzstäbchen, nur hier und da Hefezellen. Eine besondere Art dieser Gärung ist in Schottland vielfach üblich. Dort wird der Sauerteig in verschlossenen Flaschen als „Parisian barm“ verkauft. Boutroux (II) beschreibt ihn als milchige und gärende Flüssigkeit, die in zuckerhaltiger Lösung eine typische Alkoholgärung erzeugt. Sie stellt eine unreine Hefekultur dar, in der massenhaft nicht genauer beschriebene Bakterien sich vorfinden.

Durch das Auffrischen des Sauerteiges mit neuem Mehl wird wieder Zucker zugeführt. Balling (zitiert nach Birnbaum) findet es rationeller, statt Mehl und Wasser zum Auffrischen einen 12—15-proz. Malzauszug zuzusetzen. Es gelang ihm, einen angenehm aromatischen, wenig saueren Hefeteig dadurch 8 Tage lang unverändert zu konservieren, daß er alle 24 Stunden ihm Würze nebst etwas Mehl beifügte. Das Ballingsche Verfahren hat ausgedehnte Anwendung gefunden.

Die ersten, welche sich mit dem Gegenstande beschäftigten, Chicandard in seinem *Bac. glutinis*, Laurent in seinem *Bac. panificans*, hatten keine Reinkulturen vor sich. Auch die Angaben von Boutroux und Peters, von denen jeder mehrere Hefearten im Sauerteig fand, bestätigten sich nicht. Immerhin stammen die ersten Versuche, die Sauerteigorganismen zu isolieren, von Peters, welcher den Engelschen *Saccharomyces minor* ausführlich beschreibt. Auf einer ganzen Reihe von Platten, die Wolffin aus dem Sauerteig der Würzburger Bäckereien goß, kam nur eine einzige Hefe zur Entwicklung, die mit *Sacch. minor* Engel in allen Eigenschaften übereinstimmte.

Da aus jedem Mehlteig, gleichgültig ob er mit oder ohne Sauerteig gärt, sich *Bac. levans* und die anderen Bakterien isolieren lassen, diese aber während der Gärung 25—31 Proz. H_2 , *Bac. levans* in der Reinkultur sogar bis 67 Proz. H_2 erzeugen, so sollte man annehmen, daß in jedem Sauerteig dieses Gas sich vorfinden müßte. Es bestehen

aber tatsächlich die im Sauerteig produzierten Gase aus 86—94,5 Proz. CO_2 und der Rest entfällt auf Sauerstoff und Stickstoff in dem Verhältnisse zu einander wie in der Luft.

Die Zusammensetzung der in der Sauerteiggärung entstehenden Gase untersuchten Aimé Girard und Wolffin. Girard benutzte hierzu in seinen sehr eingehenden Untersuchungen kleine Metallbüchsen, die er mit 35—40 g Teig beschickte und gären ließ. Es hatten sich 25—58 ccm Gas gebildet. Die Versuche dieses Forschers sind sehr sorgfältig ausgeführt; der Teig mit Hefe gab 86—93,0 Proz. CO_2 , in einer anderen Serie 89—95,3 Proz., der Teig mit Sauerteig 89—93,0 Proz. CO_2 . Das Verhältnis von O:N ließ keinen Zweifel aufkommen über den Ursprung dieser Gase. Das Gewicht der CO_2 kann unter solchen Umständen bis 2,5 g pro 1 kg Mehl betragen, während gleichzeitig 3,15 ccm $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 2,5$ g Alkohol erzeugt werden. Es liegt hier eine reine Alkoholgärung vor, denn es ist von Girard das Pasteursche Verhältnis 48,89 CO_2 zu 51,11 $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ gefunden worden. Es ist nicht ersichtlich, ob Girard wirklichen Sauerteig, der in Frankreich wenig benutzt wird, oder Hefeteig vor sich hatte. Die französische Nomenklatur, wie nicht minder die verschiedene Art des Anteigens, läßt eine vollständige Klarlegung nicht zu (levure, levain, levain conservé etc.).

Die Befunde D ü n n e n b e r g e r s stehen im Zusammenhange mit einer heute veralteten Fragestellung. Er bezeichnet aber ganz richtig die Hefe als den Gasbildner.

Wolffins Untersuchungen bestätigen die Resultate Girards an typischen Sauerteigen. Die Zahlen differieren zwar etwas von den Girardschen, indem er 74,7—100 Proz. CO_2 in den Gärungsgasen findet neben einem großen Ueberschusse an Stickstoff. Bedauerlicherweise teilt der Forscher die Originalzahlen nicht mit. Im wesentlichen stimmen beide überein: sie finden keinen Wasserstoff in den Gasen des Teiges, obwohl *Bac. levans* nebst anderen Bakterien stets zugegen war.

Wolffin führt auch Versuche aus mit reinen Kulturen der Hefe, dem von ihm *Sacch. minor* genannten Organismus in sterilem Mehle. *Sacch. minor* gab stets eine reine CO_2 -Entwicklung. Der einzige im Sauerteig tätige Organismus ist demnach die Hefe, ob wir sie *Sacch. minor* oder anders nennen.

Holligers Studien ergeben gleiche Resultate. Er führt aus, daß in der Teiggärung, welche durch Sauerteig oder Preßhefe eingeleitet wird, die gasbildenden Bakterien weder bezüglich des Aufgehens noch sonstwie eine Rolle spielen. Das Aufgehen ist einzig und allein durch die alkoholische Hefegärung verursacht.

Gärung mit Zusatz der Preßhefe. Säureproduktion. Vergleichung mit den anderen Arten des Gärverlaufes. Die merkwürdige Erscheinung, daß die mehrfach erwähnten Bakterien Wolffins, Holligers und Levys im Sauerteige nicht zur Wirkung gelangen, kann man nur durch die Hemmung erklären, welche die Hefe auf diese Bakterien ausübt. In der Gärung der Preßhefe, wie im Sauerteige, wirkt trotz Gegenwart der genannten und der Milchsäurebakterien die Hefe allein. Es ging dies zum Teil aus den Girardschen Versuchen hervor. Eine genauere Unterscheidung ermöglichen die vergleichenden Versuche von Wolffin. Er läßt 3 Portionen des nicht sterilen Mehles in der Weise gären, daß er zu 1. 5 ccm einer frisch gärenden Hefekultur in Würze setzt, die Probe 2. mit *Bac. levans* und Hefe infiziert und 3. ohne Zusatz läßt. Bei der Temperatur von

30° gingen alle 3 Proben gleichzeitig auf. Er erzielte folgende Resultate: 1. In Mehl mit Hefe werden 98,5 Proz. CO₂ erzeugt. 2. ergibt 85—87 Proz. CO₂ neben geringen Mengen H₂, 5—7 Proz. 3. Mehl, spontan vergoren, 73—75 Proz. CO₂ und ca. 25 Proz. H₂. In 2. und 3. findet N-Produktion statt, die zwischen 1,8 und 6,9 Proz. liegt.

Die Arten der Teiggärung wurden auch von Holliger einem Vergleiche unterzogen. Die folgenden seiner Resultate sind von Interesse. Die in jedem Sauerteig sich findenden Bakterien sind kräftige Bildner der Milchsäure. Sie vernichten in kürzester Zeit die anderen durch Mehl und Wasser zugeführten Bakterien. Es bleiben nur *Bacterium lactis acidi* Leichm. und dessen nächste Verwandte verschont. Es sind dies eben selbst Milchsäurebildner; sie gehören mit den spezifischen Stäbchen des Sauerteiges in dieselbe Gruppe der echten Milchsäurebakterien, welche dadurch gekennzeichnet ist, daß ihre Vertreter aus Zucker keine Gase und überhaupt neben Milchsäure andere Produkte in nennenswerter Menge nicht bilden.

Die spezifischen Bakterien des Sauerteiges gehören nach Holliger den langstäbchenförmigen nicht gasbildenden Milchsäurebakterien an und stehen dem *Bacillus acidificans longissimus* Lafar (*Bac. Delbrücki* Leichm.) nahe. Stäbchen der gleichen Art ließen sich auch in großer Menge in sämtlichen daraufhin untersuchten Preßhefeteigen finden.

Zwischen Sauerteig und Preßhefeteig besteht bezüglich der an der Gärung beteiligten Organismen kein Unterschied. In beiden ist die Hefe das ausschließlich lockernde Agens, in beiden beginnt mit der Tätigkeit und Vermehrung der Hefe gleichzeitig eine Vermehrung der Milchsäurebakterien. Ob viel oder wenig Säure in das Brot gelangt, hängt ganz von der Behandlung des Teiges, speziell von der Dauer der Teiggärung ab. Im weiteren bemerkt Holliger: Die Milchsäurebakterien sorgen dafür, daß die alkoholische Gärung nicht von unangenehmen Nebengärungen, wie sie z. B. Buttersäurebakterien oder Bakterien aus der Coligruppe auslösen, begleitet wird. Hefe und Milchsäurebakterien wirken bei der Aufbewahrung des aufgegangenen Teiges konservierend; die Hefe, indem sie die Entwicklung der Schimmelpilze verhindert, die Milchsäurebakterien, indem sie keiner anderen Bakterienart aufzukommen gestatten.

Die späteren Versuche Levys brachten eine Bestätigung derjenigen Holligers.

Ueber die Menge und die Natur der im Preßhefeteig und Sauerteig vorhandenen Säuren liegen zahlreiche Analysen vor. Die älteren Bestimmungen sind im vorzüglichen Werke von Bibras nachzusehen, der auch Gräger zitiert. Mit russischen Broten beschäftigt sich Popoff. Es sei hier auf Ballaud l. c. hingewiesen, der im backfähigen Teige 0,089 Proz. Säure als H₂SO₄ findet, während der Hefeteig, der zum Ansetzen diente, 0,126—0,228 Proz. Säure besaß. In den zitierten Arbeiten des Würzburger Institutes sind verschiedene Analysenresultate zu finden, desgleichen in der Arbeit Holligers. Andere Angaben werden in den zitierten Schriften genannt. Bald sind sie jedoch auf Teig, bald auf Mehl oder Brot bezogen, bald als H₄C₂O₂, H₂SO₄ oder H₂SO₃ berechnet, so daß sie nicht gut vergleichbar sind.

Die grundlegenden Arbeiten über Säurebildung und Gehalt im Teig und im Brote verdanken wir wiederum dem auf dem Gebiete der Brotfrage hochverdientem K. B. Lehmann I und II, sowie seinen Schülern;

neuestens hätte Albrecht in Würzburg die Beteiligung der Hefen und Bakterien an der Säurebildung behandelt. Lehmann findet im Brote Milchsäure und einige höhere Fettsäuren, in größeren Mengen Essigsäure. Buttersäure kommt nur selten im Brote vor. Ameisensäure war nicht vorhanden, wohl aber Spuren von Aldehyden.

Es sei noch auf die sorgfältig ausgearbeitete Lehmannsche Bestimmungsmethode hingewiesen, welche gestattet, neben den saueren Phosphaten die flüchtigen und nichtflüchtigen, im Wasser und im Aether löslichen Säureteile zu ermitteln.

Die Schlüsse, zu denen dieser Forscher in Bezug auf den Gesamtsäuregehalt gelangt, sind folgende. Alle mit seiner Hefe bereiteten Brote haben einen niederen oder sehr niederen Säuregehalt. Die Lockerung geht hier so rasch vor sich, daß die relativ spärlich vorhandenen Säurebakterien gar nicht Zeit haben, wesentlich Säure zu bilden. Hierher gehören von den Schrotbroten das Grahambrot, einige Roggenmehlbrote und alle Weißbrote. Durch Anwendung unreiner Hefe, säuernder Milch, ranziger Butter oder zu langer Gärdauer wird auch Hefebrot etwas sauer. Alle mit Sauerteig bereiteten Brote sind sauer. Es konnte hierbei die Art des Sauerteiges resp. der in ihm enthaltenen Bakterien von Einfluß sein, nicht nur auf die Art der Säure, sondern auch auf die Säuremenge. Im weiteren spielen Gärungsdauer und Temperatur eine höchst wichtige Rolle.

Lehmann ermittelt unter anderem den Einfluß der Gärdauer auf die Säurebildung, worüber schon v. Bibra Versuche anstellte. So stieg z. B. der Gehalt an Säure des Brotes, titriert in 100 g frischer Krume von 11,5 ccm $\frac{1}{10}$ N. NaOH, wenn sein Teig 24 Stunden lang gäerte, auf 24 ccm und nach weiteren 24 Stunden auf 26,5 ccm. In anderen Fällen hatte ein Brot mit Sauerteig 12,7 ccm, nach 24-stündigem Stehen des Teiges 20 ccm $\frac{1}{10}$ N. NaOH zur Neutralisation gebraucht. Der Forscher liefert eine ganze Reihe ähnlicher Resultate. Als Ursache mancher abnormer Säuregehalte erscheint ihm die zu lang dauernde Gärung unter Anwendung von Sauerteig. Große Unterschiede sind auch zwischen Sommer- und Wintergebäck zu konstatieren etc.

Henneberg isolierte 7 verschiedene Milchsäurebacillen aus Preßhefe, meist neue Arten, und 2 aus Sauerteig, nämlich außer *Bac. lactis acidi* Leichm. die neue Art *Bac. panis fermentati* Henneberg. Er liefert eine vergleichende Untersuchung praktisch wichtiger Milchsäurebildner.

Gärung des Teiges mit Reinhefe. Als Ansatzhefen der Preßhefefabrikation werden vom Berliner Institute für Gärungsgewerbe, Berlin N. die Heferassen II und V abgegeben. Sie sind von Lindner isoliert und in die Praxis eingeführt worden. Ihre Eigenschaften studierten eingehend Lindner und Henneberg (II). Die erzeugte Preßhefe ist indessen keine Reinkultur mehr. Die Reinhefekulturen direkt in die Bäckerei einzuführen, war das Bestreben von Schiøtz-Christensen in Kopenhagen. Eigentliche Studien über Gärprodukte und den praktischen Erfolg liegen nicht vor. Während die Gärungsindustrie der weitgehendsten Fürsorge der Chemiker und Bakteriologen sich erfreut, hatten diese bisher der Anwendung der Reinkultur in der Bäckerei nicht die geringste Aufmerksamkeit geschenkt. Ob die Reinkulturen der genannten Heferassen II und V des Berliner Instituts zu Versuchen am Teige benutzt, oder ob sie nur auf Grund der bekannten

Gärproben von Meissl, Haiduck u. A. in die Fabrikation eingeführt wurden, ist dem Referenten nicht bekannt. Das Wenige, das dem Referenten über Anwendung der Reinkultur Schütz-Christensens zu erfahren gelang, stammte von Em. Chr. Hansen; es ist angeführt im Buche über Getreide, Mehl und Brot (Maurizio I).

Die Arten der Teiggärung der Praxis wurden vom Referenten l. c. meist auf Grund der hier mehrfach erwähnten Studien der verschiedenen Forscher behandelt. Viele interessante Einzelheiten aus der Praxis enthält das Bäckerbuch. Ein besonderes biologisches Interesse erregt die Bereitung der Lebkuchen, dessen Teig zeitweise bis zu 50 Proz. Zucker enthält. Welche Organismen hier die Gärung bewirken, ist bisher nicht untersucht worden.

Für die schließliche Beurteilung des Effektes der Teiggärung, welcher Art sie auch sein mag, ist von Wichtigkeit das Verhältnis des Volumens der erzeugten Gase zum Volumen des Brotes. Die Frage ist in der Literatur kaum berührt. Am Brote aus Preßhefeteig zeigte der Referent (II), daß vom Gesamtvolumen der erzeugten CO_2 in Produkten bester Mehle nur 56—61 Proz. bei der Teiggärung und 63—67 Proz. beim Backen wirksam sind. In Produkten der schlechten Mehle sinkt das im Brote zur Wirkung gelangte Gasvolumen auf 41 resp. 27 Proz. der gesamten erzeugten CO_2 . Wir haben also Verluste an CO_2 , die von 33 zu 67 Proz. steigen. Es kam in dem Falle weniger darauf an, welche absolute CO_2 -Menge erzeugt wurde, als auf die Permeabilität des Teiges für Gase und Nebenwirkungen, wie Peptonisierung des Klebers etc.

Literatur.

- Albrecht, A., Ueber die Beteiligung der Hefen und Bakterien an der Säurebildung im Teige. [Dissertation.] Würzburg 1905.
- Bäckerbuch, Das, Ein praktisches Handbuch der Bäckerei aller Länder. Stuttgart (F. Kraus) 1900—1901.
- Bibra, von, Die Getreidearten und das Brot. 2. Aufl. Nürnberg 1861. p. 164 u. 413 u. f.
- Birnbaum, K., Kurzes Lehrbuch der landwirtschaftlichen Gewerbe. Bd. I. Heft 1. p. 251 u. Heft 2. (Das Brotbacken). Braunschweig 1886.
- Boutroux, L., (I) Le pain et la panification. Paris 1897. p. 97.
- , (II). Sur la fermentation panaire. (Annales de Chimie et de Physique. Série 6. T. XXVI. 1892.
- Chicandard, G., I—III. C. R. de l'Ac. Bd. XCVI. 1883. p. 1585, Bd. CXVII. 1883. p. 616. Bd. CXIII. 1891. p. 612.
- Duclaux, I. Microbiologie. Paris 1883. p. 485.
- , II. Microbiologie. Bd. II. 2. Aufl. Paris 1901.
- Dumas, Traité de Chimie appliquée aux arts. T. IV. Paris 1843. p. 415.
- Dünninger, Carl, Bakteriologisch-chemische Untersuchung über die beim Aufgehen des Brotteiges wirkenden Ursachen. (Zürcher Dissertation.) Cassel 1888. (Auch Botan. Centralbl. 1889.)
- Engel, L., Les ferments alcooliques. Thèse. Paris 1872.
- Flügge, C., Die Mikroorganismen. Leipzig 1886. p. 491.
- Fränkel, F., Ueber das konstante Vorkommen eines zur Colipruppe gehörigen Bacillus im Weißbrotteig. [Dissertation.] Würzburg 1896.
- Girard, Aimé, C. R. de l'Acad. Bd. CI. 1885. p. 601.
- Hager, H. und Holdermann, E., Hagers Untersuchungen. Ein Handbuch der Untersuchung etc. 2. Aufl. Leipzig 1888. Bd. II. p. 486.
- Henneberg, W., I. Zur Kenntnis der Milchsäurebakterien der Brennereimaische, der Milch, des Bieres, der Preßhefe etc. (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. Jahrg. 26. 1903. No. 22—31. p. 226 u. f.)
- , II. Die Brennereihefen Rasse II und Rasse XII. (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. Bd. XXVI. 1903. No. 9.)

- Holliger, Wilh., *Bakteriologische Untersuchungen über Mehlteiggärung.* (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. IX. 1902. Auch Zürcher Dissertation. 1902.)
- Kobert, R., *Ueber den Kwas und dessen Bereitung.* (Historische Studien aus dem pharmakolog. Institut d. Univers. Dorpat. Bd. V. 1896. p. 2—5 des S.-A.)
- Laurent, E., *La bactérie de la ferment. panaira.* (Bull. Acad. Roy de Belgique. Série III. 1885. T. X. No. 12. Auch referiert in *Revue scientifique.* 1886. T. I. p. 284.)
- Lehmann, K. B., I. *Säuregehalt des Brotes.* (Archiv f. Hygiene. Bd. XIX. 1893. p. 363.)
- , II. *Neue Studien über die Acidität des Brotes etc.* (Arch. f. Hygiene. Bd. XLIV. p. 214.)
- Levy, Fritz, *Beiträge zur Bakteriologie der Mehlteiggärung und Sauerteiggärung.* (Aus d. hygien. Institut i. Würzburg.) (Arch. f. Hygiene. Bd. XLIX.)
- Lindner, P., *Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben.* 2. Aufl. Berlin 1898. p. 274 u. f.
- Marcano, C. R. de l'Acad. Bd. XCVI. 1883. p. 1733.
- Maurizio, A., I. *Getreide, Mehl und Brot.* Berlin (Parey) 1903. p. 246.
- , II. *Backfähigkeit des Weizens etc.* (Thiels Landw. Jahrb. 1902. p. 226.)
- Mège-Mouriès, *Recherches chimiques sur le froment, sa farine etc.* (C. R. de l'Acad. Bd. XLIV. p. 40 u. 449; auch Bd. XLII. p. 1122.)
- Mousette, C. R. de l'Acad. Bd. XCVI. 1883. p. 1865.
- Papastorriu, J., *Untersuchungen über das Vorkommen des Bact. coli im Teige etc.* (Arch. f. Hygiene. XLI.)
- Parmentier, Ant. Aug., I. *Expériences et réflexions sur les blés et les farines.* Paris 1776. p. 80.
- , II. *Traité sur la fabrication du pain.* Paris 1778. p. 249. (P. citiert nach A. Balland. *Recherches sur les blés, les farines et le pain.* Paris 1894. p. 197.)
- Peters, W. L., *Die Organismen des Sauerteiges und ihre Bedeutung für die Brotgärung.* (Botan. Zeitung. Bd. XLVII. 1889. Heft 25/27.)
- Popoff, *Zeitschr. f. angew. Chemie.* 1888. p. 476.
- , M., *Sur un bacille anaérobie de la fermentation panaira.* (Annales de l'Inst. Pasteur. T. IV. 1890. Heft v. 25. Oktober.)
- Wigand, Albert, *Entstehung der Fermentwirkung der Bakterien.* Marburg 1884.
- Wolffin, Alex., *Bakteriologische und chemische Untersuchungen über Sauerteiggärung.* (Würzburger Dissertation.) München (R. Oldenbourg) 1894. (Auch im Arch. f. Hygiene. 1894.)

Originalreferate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten. Laboratorien etc.

Nachdruck verboten.

Aus dem Institut für Gärungsgewerbe, Berlin.

Hayduck, Fritz, *Ueber die Bedeutung des Eiweiß im Hefeleben.* (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. XXII. No. 40. p. 525—528; No. 41. p. 573—576; No. 42. p. 598—602; No. 43. p. 613—616; No. 44. p. 633—635; No. 45. p. 646—650; No. 46. p. 661—665.)

Eine Sammlung von Arbeiten, die aus dem Institut für Gärungsgewerbe zu Berlin hervorgegangen sind, in historischer Darstellung.

M o h r (Berlin).

Lange, H., *Die Anwendung des Formaldehyds in Dickmaischbrennereien.* (Zeitschrift f. Spiritusindustrie. Bd. XXIX. No. 1. p. 1—2.)

Die Versuche, über welche Verf. berichtet, wurden von W. Henneberg und H. Stiegeler, teils im Laboratorium, teils in der Versuchsbrennerei des Institutes für Gärungsgewerbe, Berlin, ausgeführt, außerdem wurden Versuche in 5 Brennereien der Praxis angestellt. Die Ergebnisse lassen sich, wie folgt, zusammenfassen: Der Aldehyd ist

dank seiner stark bakteriziden Wirkung, ohne gleichzeitig auf die Hefe schädigend zu wirken, ein ausgezeichnetes Mittel zur Reinhaltung der Gärungen. Sowohl auf die Gärtätigkeit der Hefe wie auf die Diastase des Malzes übt der Aldehyd anregenden und konservierenden Einfluß aus, infolgedessen ist lebhaftere Nachgärung zu beobachten. In gut eingerichteten und arbeitenden Betrieben gewährleistet die Verwendung von Formaldehyd gleichmäßiges und sicheres Arbeiten, von augenfällig günstigem Einfluß ist seine Verwendung bei akuten Betriebsstörungen und in Betrieben, wo die Reinheit der Gärung zu wünschen übrig läßt. Die zu verwendenden Mengen Aldehyd betragen für einfachen Betrieb von 3000 l Maischraum täglich pro Hefengefaß 100 ccm käuflichen Aldehyds, so daß in diesem Fall der Kampagnebedarf rund 25 l beträgt. Diese Menge erhöht sich noch etwas, da durch Zusatz geringer Mengen des Antiseptikums auch zur Hauptmaische der Erfolg noch etwas gesteigert werden kann.
Mohr (Berlin).

Aus dem chemischen Laboratorium der Königl. Landwirtschaftlichen Hochschule, Berlin.

Buchner, E. und Gaunt, R., Neue Versuche über die Oxydase der Essigbakterien. (Wochenschrift f. Brauerei. Bd. XXII. No. 48. p. 709—710.)

In Erweiterung der früheren Versuche über dieses Thema von E. Buchner und J. Meisenheimer (Berichte der Deutsch. chem. Gesellsch. Bd. XXXVI. p. 634 ff.) geben Verf., veranlaßt durch die Veröffentlichung von F. Rothenbach und L. Eberlein (Deutsche Essigindustrie. Bd. IX. p. 233) eine vorläufige Mitteilung über die Ergebnisse der in größerem Maße angestellten Versuche betreffend Essigsäurebildung in wässrigen Alkohollösungen durch Bieressigbakterien. Die Bakterien wurden auf verdünnter, mit 4-proz. Alkohol und 1-proz. Essigsäure versetzter Bierwürze gezüchtet, die erhaltenen Bakterienhäute, in Hauptsache *Bacterium aceti* Hansen, durch mehrfaches Zentrifugieren von den Resten der Nährlösung getrennt und in Daueracetonepräparate übergeführt. Die Dauerbakterien wurden entweder direkt oder nach Zerreiben mit Sand und Kieselgur mit 4-proz. wässrigen Alkohol und etwas Calciumkarbonat zu einem Brei angerührt, mit Toluol versetzt und dann bei 30° ein steriler Luftstrom durchgeblasen. Die Untersuchung auf gebildete Essigsäure erfolgte nach 3 Tagen, bei der Titration der Säure wurde noch besonders darauf Rücksicht genommen, daß nicht etwa vorhandene Kohlensäure zu hohe Werte vortäuschte. Die Versuche ergaben in allen Fällen positive Ergebnisse, von der gefundenen Menge Säure, die bei Verwendung von 17,4 resp. 20 g Dauerbakterien Essigsäuremenge von 0,09 bis 0,40 g betrug, gleichgültig ob zerriebene oder nichtzerriebene Bakterien verwendet wurden, muß noch eine bestimmte, durch besonderen Versuch zu ermittelnde Menge Säure abgezogen werden, welche in den Bakterien bereits enthalten ist. Diese Menge schwankte bei den in Frage stehenden Versuchen für 1 g Bakterien zwischen 0,0005 und 0,0025 g Essigsäure. Von besonderem Interesse ist die Beobachtung, daß auch höhere Alkohole der Oxydation durch die Oxydase der Essigbakterien zugänglich sind, so wurde aus Propylalkohol Propionsäure erhalten.
Mohr (Berlin).

**Bakteriologisches Laboratorium der schweiz. landw. Versuchs- und
Untersuchungsanstalten Liebefeld.**

Vorstand: Dr. Ed. v. Freudenreich.

Nachdruck verboten.

Ueber nachträgliche Blähungen in Emmentalerkäsen¹⁾.

Von **J. Thöni**, Assistent.

Als eine der häufigsten Betriebsstörungen in den Emmentalerkäsereien gilt das sogenannte „Blähen“ der Käse. In der Fachliteratur werden als Ursache dieser abnormalen Erscheinung meistens Bakterien angeführt, die zu den aëroben oder fakultativ anaëroben Arten gehören. So hat v. Freudenreich den unter dem Namen *Bacillus Schafferi*, einen jedenfalls zu der Coli-Gruppe gehörenden Organismus, ferner die *Bacillen Guillebeau a, b und c* und *Bacterium lactis aërogenes* als Erreger von Käseblähungen nachweisen können. Die gleiche Eigenschaft sollen zwei von Adametz beschriebene Kokkenarten besitzen. Auch Weigmann führt zwei *Bacillenarten* und *Duclaux* den als *Bacillus Actinobacter polymorphus* beschriebenen Organismus an, die zu diesen Blähungserregern gezählt werden müssen. Eine von *Baumann* mit dem Namen *Bacillus diatrypticus casei* belegte Bakterienart, der dieser Autor die Rolle eines richtigen Lochbildners im Käse beilegt, muß ebenfalls hierher gezählt werden. Von *Bochicchio* ist ferner im lombardischen Granakäse eine Hefeart gefunden worden, die Blähungen in demselben hervorrufen soll. Bei einer weiteren Anzahl, die in der Literatur als Blähungsorganismen angeführt sind, fehlt der experimentelle Nachweis. In den meisten der angeführten Fällen handelt es sich, wie man sieht, um Bakterien der Coli- oder Aërogenes-Gruppe.

Während nun die durch die erwähnten Bakterienarten hervorgerufene Blähung kurze Zeit nach der Fabrikation der Käse, d. h. nach zirka 6—36 Stunden, auftritt, gibt es eine zweite Art Blähung, die sich von ersterer dadurch unterscheidet, daß sie erst nachträglich auftritt. Ueber die Ursachen derselben hat man bis jetzt nichts Sicheres erfahren. In neuerer Zeit haben freilich *Peter* und *Schneebeli*²⁾ einen solchen nachträglich geblähten Käse untersucht und dabei einen zur Gruppe des *Aërogenes* gehörenden Mikroorganismus gefunden. Sie haben daher die Vermutung ausgesprochen, daß derselbe die Ursache der in der fraglichen Käserei bei 24 Käsen nacheinander aufgetretenen nachträglichen Blähungen gewesen sei. Da jedoch die Versuche, welche *Peter* und *Schneebeli* mit diesem *Bacillus* ausführten, um für ihre Ansicht Beweise zu erbringen, das Resultat hatten, daß die damit geimpften Käse bereits nach 36 Stunden blähten, so glaubt Verf., sich dieser Ansicht nicht anschließen zu können, um so weniger als er bei der Untersuchung zweier Stücke aus der gleichen Partie nachträglich geblähter Käse ganz andere Resultate erhielt. Außer Milchsäurebakterien und Aërogenes-ähnlichen Bakterien, die jedoch kein Gas bildeten, fand er nämlich in diesen 2 Käsen noch einen Buttersäurebacillus in großer Anzahl vor (25 000 000 Keime per Gramm), was den Gedanken nahelegen mußte, daß er mit diesen nachträglichen Blähungen im Zusammenhang gestanden

1) Landw. Jahrbuch der Schweiz. 1906.

2) Diese Zeitschrift. Abt. II. Bd. XX. 1905. p. 600.

sei. Bei der Untersuchung des zweiten Käses wurde derselbe daher auch auf flüchtige Säuren untersucht, um eine etwaige Buttersäuregärung nachzuweisen. Verf. bediente sich dabei einerseits der Methode von Duclaux, und andererseits stellte er in verschiedenen Fraktionen Silbersalze her. Beide Verfahren sind in der Arbeit „Biologische Studien über den Käsereifungsprozeß, unter spezieller Berücksichtigung der flüchtigen Fettsäuren“ von Dr. Orla Jensen (Landwirtschaftliches Jahrbuch der Schweiz. 1905. p. 319) ausgearbeitet und näher beschrieben. Nach den Untersuchungen Jensens bestehen die flüchtigen Fettsäuren im Innern eines normalen vollreifen Emmentalerkäses hauptsächlich aus Propion- und Essigsäure, daneben kommen geringe Mengen Capron- und Buttersäure, die nur von der Fettspaltung herrühren, sowie Spuren von Ameisensäure vor. Bei der Untersuchung des betreffenden Käses auf flüchtige Fettsäuren war nun das Ergebnis folgendes: Der Silbergehalt der Silbersalze der 3 Fraktionen betrug: 56,53, 56,67 und 63,69 Proz. Die Zahlen der fraktionierten Destillationen nach Duclaux ergaben ein ungefähres Verhältnis von Buttersäure: Essigsäure = 1:1.2, daneben fanden sich auch Spuren von Propionsäure vor. Es hatte also unzweifelhaft in diesem Käse eine sehr kräftige Buttersäuregärung stattgefunden.

Um festzustellen, ob vielleicht die erwähnten nachträglichen Blähungen der Käse mit einer abnormen Buttersäuregärung in Verbindung standen, deren Ursache der vorgefundene Buttersäurebacillus sei, wurden nun in der Käserei der Versuchsanstalt Liebefeld einige Versuche gemacht.

Es zeigte sich hierbei, daß ein mit Kunstlab hergestellter und mit diesem Buttersäurebacillus geimpfter Käse blähte, als er in die Heizung gebracht wurde, also nachträglich. Nach 3 Monaten wurde der Käse untersucht. Er war beinahe ungenießbar und die chemische Analyse ergab auch, daß eine anormale Buttersäuregärung stattgefunden hatte. Bei Verwendung eines sehr guten und kräftigen Naturlabes dagegen entwickelten sich diese Buttersäurebacillen nur schwach.

Nach Ansicht des Verfassers muß in der fraglichen Käserei, die diese nachträglich geblähten Käse lieferte, jedenfalls ein sehr schwaches Lab zur Verwendung gekommen sein, das dann, analog dem Kunstlab, die Buttersäuregärung nicht verhindern konnte. Für diese Ansicht spricht auch die weitere Tatsache, daß, wie die bakteriologische Untersuchung der Originalkäse zeigte, aus denselben von Milchsäurebakterien hauptsächlich ein *Bacillus casei* δ ähnlicher Organismus isoliert werden konnte, der bekanntlich, wie frühere Untersuchungen zeigten, ein nur sehr schwacher Säurebildner ist. Leider konnte das für die geblähten Käse verwendete Lab nicht mehr untersucht werden, da dasselbe längst verbraucht war.

Was nun die mutmaßliche Quelle dieser bakteriellen Infektion in der betreffenden Käserei anbetrifft, kämen sowohl die Milch wie das Lab, resp. die zur Bereitung des Labes dienenden Labmägen in Betracht. In der Milch sind von Grasberger und Schattenfroh, sowie von anderen Forschern öfters Vertreter der Gruppe des beweglichen Buttersäurebacillus gefunden worden, und vom Verf. wurden bei Labmägenuntersuchungen ähnliche Organismen isoliert.

Der betreffende Bacillus scheint, nach den Angaben des Verf., mit dem beweglichen Buttersäurebacillus von Grasberger und Schattenfroh verwandt zu sein. Er wird vom Verf., wie folgt, kurz beschrieben:

Morphologie und Sporenbildung: Gestreckte, meistens regelmäßige Bacillen von 2—9 μ Länge und 1,2—1,6 μ Breite. In flüssigen Kulturen sind die Enden gewöhnlich nicht, oder nur sehr schwach abgerundet, dagegen meistens deutlich auf festen Nährböden. Aeltere Kulturen weisen öfters zahlreiche Involutionsformen auf.

Die Sporen sind oval, 1,8 μ breit und 2—3,6 μ lang. Bei der Bildung der Spore beobachtet man sowohl tonnenförmig angeschwollene, wie gleichmäßig verdickte Individuen. Die Spore kann in der Mitte des Stäbchens, wie gegen das eine Ende hin auftreten.

Er ist lebhaft beweglich. Geißeln nachzuweisen gelang ihm nicht mittels der Methode von Kuntze, obwohl dieses Färbungsverfahren ihm bei anderen Bakterien sehr gut gelang. Mit den gewöhnlichen Anilinfarben und nach Gram ist er gut färbbar.

Schottenagarplatten bei Luftabschluß bei 30° C: Grauweiße rundliche und ovale glattrandige Kolonien, die in der Mitte schwach erhaben sind. Nach 4—5 Tagen erreichen sie einen Durchmesser von 1½—2 mm; sie sind vielfach in einer Gasblase eingeschlossen. Bei schwacher Vergrößerung erscheinen sie hellgelb mit dunklerem Zentrum. Die Struktur ist feinkörnig.

Schottenagarstich bei 37° C: Nach 16—18 Stunden tritt kräftiges, bandförmiges Wachstum im Stichkanal auf, das nach oben schwächer wird und zirka 1 cm unter der Oberfläche aufhört. Gewöhnlich ist der Nährboden an mehreren Stellen zerrissen und mit Gasblasen durchsetzt.

Schottenagarschüttelkulturen bei 37° C: Die Kolonien erscheinen bereits nach 14—18 Stunden als weiße runde Scheiben. Sie erreichen, insofern sie genügend auseinanderliegen, einen Durchmesser von 2—3 mm. Sie sind rund, glattrandig, in der Mitte verdickt. Der Nährboden wird schwach getrübt.

Gelatinestich bei Luftabschluß: Das Wachstum ist hier nur ein sehr langsames. Erst nach längerer Zeit treten im Stichkanal vereinzelte, weiße, kugelige Kolonien auf, die nach 2—3 Wochen einen Durchmesser von zirka 1½ mm erreichen. Von den Kolonien gehen ringsum kurze Ausläufer in den Nährboden ab.

Milchkultur bei 37° C: Nach 22 Stunden ist die Milch geronnen, unter Ausscheidung eines klaren Serums. Das Coagulum ist gewöhnlich zusammengezogen und stark durchlöchert. Die Reaktion ist sauer.

Kartoffelkultur bei 37° C: Dünner, grauweißlicher, saftigglänzender, kaum sichtbarer Belag.

Schottenkultur bei 30° C: Die Schotten werden getrübt und bei nur schwacher Acidität des Nährbodens tritt schon nach 1—2 Tagen heftige Gasbildung auf. Mit steigendem Säuregrad des Nährmediums wird die Gasbildung verzögert und verläuft im allgemeinen nicht mehr so stürmisch.

Chemische Leistungen. Bei allen diesen Kulturen ist ein deutlicher Buttersäuregeruch wahrnehmbar. Bei einer 3 Monate alten Schottenkultur waren neben Buttersäure auch Propion- und Essigsäure nachweisbar.

Der Arbeit ist eine Tafel beigegeben, welche über die Versuchskäse Auskunft gibt. v. Freudenreich (Bern).

Originalreferate aus den Sitzungen gelehrter Gesellschaften.

Nachdruck verboten.

Physiologische Gesellschaft zu Berlin, Sitzung vom 16. Februar 1906.

Herr Prof. Buchner (als Gast) über den Nachweis von Enzymen in Mikroorganismen.

Eine Haupterrungenschaft des letzten Jahrhunderts ist der Nachweis von Mikroorganismen. Es sei nur erinnert an die Namen Pasteur, Lister, Nägeli, Ferdinand Kohn und Robert Koch. Im Gärungsgewerbe war man schon früher auf die Mikroorganismen aufmerksam geworden, und die Arbeiten, über die ich Ihnen heute berichten will, sind mit den Mikroorganismen, die Gärung bedingen, ausgeführt worden. Lange Zeit erschien die Gärung als ein vitaler Akt der Hefe, doch die berühmten Chemiker, unter ihnen Liebig und Berzelius, stemmten sich mit aller Gewalt gegen diese Anschauung. War doch erst kurze Zeit seit der Synthese des Harnstoffs verflossen und war man doch auf dem Wege, alle Stoffe des Tier- und Pflanzenkörpers durch chemische Synthese zu erzeugen! Liebig drückte seine Mißbilligung in der Weise aus, daß er sagte: „Eben ist man endlich dazu gelangt, nachzuweisen, daß alle Stoffe, die in Tieren und Pflanzen gebildet werden, durch chemische Synthese entstehen, und nun kommen da unwissenschaftliche Leute und wollen die Gärung für vitalistische Akte in Anspruch nehmen.“ Die damaligen Vertreter vitalistischer Ideen vermochten, obwohl Mitscherlich und Helmholtz und andere auf ihrer Seite standen, mit ihrer Ansicht nicht durchzudringen.

Pasteur hat dann in 10-jähriger Forscherarbeit den Nachweis geführt, daß ohne das Vorhandensein von Gärungserregern keine Gärung entstehe; Moritz Traube nahm an, daß Stoffe, wie die Diastase und ähnliche, in der Hefe enthalten seien. Derselben Anschauung waren hervorragende Chemiker, wie Berthelot. Aber die betreffenden Stoffe konnten eben nicht isoliert werden. Versuche in dieser Richtung wurden sehr zahlreiche ausgeführt: bereits 1846 hat Lüdersdorff Hefe verrieben, aber in sehr unvollkommener Weise; wurde diese Hefeverreibung mit Zuckerlösung gemischt, zeigte sich keine einzige Gasblase, also keine Spur von Gärung; ähnlich erging es anderen bei ihren Versuchen, und die Folge des Mißlingens dieser Versuche war die Annahme der Nägeli'schen Theorie, welche besagt, daß nur dem lebenden Plasma die Eigenschaft der Vergärung zukomme.

Die Hefe ist von einer dicken Chitinmembran umgeben, die von Oeffnungen durchsetzt sein muß, die aber mikroskopisch nicht nachzuweisen sind. Nencki hat mit verdünnter Natronlauge, Nägeli und Löw mit Wasser, Robert Koch mit Glycerinlösung unter Erhitzen eine Extraktion der in Zellen eingeschlossenen Substanzen zu erzielen versucht. Durch alle diese Methoden sind unveränderte Inhaltssubstanzen nicht zu erhalten. Der Vortragende stellte sich in Gemeinschaft mit seinem Bruder, dem jetzt verstorbenen Hygieniker Hans Buchner in München die Aufgabe, die Inhaltssubstanzen unverändert aus den Zellen zu gewinnen. Sie wurden über den Weg klar und postulierten: Zur Extraktion dürften keine chemischen Mittel angewandt werden, sondern dieselbe müßte durch mechanische Einflüsse bewirkt werden.

Sie benutzten dazu die nach ihnen benannte Presse, indem sie mit einem Druck von über 200 Atm. arbeiteten. Die Hefezelle wird schon vorher mechanisch zertrümmert und zwar durch Quarz, von dem die gleiche Menge zugesetzt wird. Ferner wird ein Viertel des Volumens von Kieselguhr hinzugefügt, damit die Masse besser plastisch wird. Beim Zerreiben wird die Masse schnell braun und nach kurzer Zeit teigförmig. In wenigen Stunden ist die Auspressung vollendet, der gewonnene Saft ist bräunlich, durchsichtig, leicht angenehm nach Hefe riechend. Der zurückbleibende Preßkuchen ist völlig verändert, er bildet eine amorph-krümelige sandartige Masse.

Der Preßsaft koaguliert beim Erhitzen; es ist dies der sichere Beweis für die Anwesenheit von Eiweißsubstanzen, welche man vorher in der Hefezelle nicht sicher nachweisen konnte. Der Saft zeigt nun verschiedene Eigenschaften, die auf das Vorhandensein von Enzymen hindeuten. Fügt man Zucker hinzu, so treten Gärungserscheinungen auf und zwar schneller und stärker, als wenn man lebende Hefe hinzufügt. Vermischt man Preßsaft mit Wasser und Wasserstoffsperoxyd, so tritt starkes Schäumen auf, welches auf ein katalytisches Ferment (die sog. Katalase) zurückgeführt wird. Stellt man die Gärung in einem Bunsenschen Kolben auf (sog. Verlustmethode), so findet man, daß ziemlich gleich viel Kohlensäure und Alkohol gebildet werden. Dadurch wird bewiesen, daß die Gärung sich tatsächlich nach der Gleichung vollzieht, $C_6H_{12}O_6 = 2 CO_2 + 2 C_2H_5O$.

Es sind nun verschiedene Einwände zu widerlegen. Zunächst muß man zeigen, daß die Gärung nicht von den Hefezellen herrührt, die in dem Preßsaft selbst enthalten sind. Die Zahl der Zellen ist viel zu gering, um die Wirkung zu erklären; ferner kann man den Preßsaft durch Kieselguhrfilter, ja selbst durch Chamberlandsche Kerzen hindurchfiltrieren, ohne daß mehr als ein Viertel der Gärungsfähigkeit dabei verloren geht. Dann konnte man auf die Idee kommen, daß die im Preßsaft enthaltenen Protoplasmaschlacken die Ursachen des Gärungsvermögens sind. Dagegen sprechen jedoch die Versuche, die man mit Zusatz von Antiseptics angestellt hat. Es wurde als Zusatz Toluol verwendet.

| Verwendete Menge | Toluol-zusatz | Verwendete Menge Rohrzucker | Bei der Gärung gebildete Menge Kohlensäure |
|------------------|---------------|-----------------------------|--|
| 1 g Hefe | — | 8 g | 2,5 |
| 1 g „ | 0,02 | 8 g | 0,03 |
| 20 ccm Preßsaft | 0,02 | 8 g | 0,79 |
| 20 ccm „ | — | 8 g | 0,80 |

Das Ergebnis dieses Versuches spricht dagegen, daß Protoplasmaschlacken die Ursachen der Gärung sind. Man kann den Preßsaft im Vakuum eindicken und nach Lösung dann wieder ein längere Zeit wirksames Gärungspräparat erhalten. Fällt man den Preßsaft mit Alkohol und Aether, so erhält man einen Niederschlag, der monatelang aufgehoben werden kann, ohne alle Gärwirkung zu verlieren. Abgetötete Hefe ist ebenfalls noch vergärungsfähig. 10 Stunden lang bei 110° abgetötete Hefe bewirkt, mit Wasser- und Zuckerlösung zusammengebracht, noch Gärung. Wird Hefe in Alkohol und Aether oder noch besser in Aceton eingetragen, so erhält man eine Dauerhefe (Acetondauerhefe).

Hahn in München hat die Beobachtung gemacht, daß in Gelatine eine Lösung auftritt, wenn man diese mit Preßsaft überschichtet. Diese

wird auf ein verdauendes Ferment, die Endotryptase, bezogen. Läßt man Hefesaft eine Weile stehen, so ist die Eiweißsubstanz nicht mehr koagulierbar; es soll dies ebenfalls auf die Wirkung der Endotryptase zurückzuführen sein. Es spricht für diese Anschauung, daß die Mehrzahl der anderen Verdauungsfermente ebenfalls außerordentlich stark die Gärwirkung vermindern.

Buchner zeigte dann eine Reihe sehr interessanter Präparate, die mit Gramfärbung behandelt und mit Safranin nachgefärbt sind. Die Mehrzahl der Hefezellen ist dunkelviolet gefärbt, ohne irgend welche Differenzierungen erkennen zu lassen. Einzelne Individuen zeigen rosa Färbung und im Innern der Zelle einen dunkelroten Kern. Die so gefärbten Individuen müssen auf abgestorbene Hefezellen bezogen werden. Läßt man die Hefezellen längere Zeit in Wasser aufquellen, so weicht die intensive dunkelviolet Färbung allmählich der eben beschriebenen rosafarbigem, doch sind hierzwischen sämtliche überhaupt denkbaren Uebergangsstadien vorhanden, bei denen die Zelle dunkelviolet getüpfelt ist und fast das Aussehen einer Leukocytengranulation darbietet (oder das eines punktierten Erythrocyten). Bei Gärungsversuchen mit Preßsaft tritt nicht selten Milchsäure auf, was bei gewöhnlicher Gärung mit lebender Hefe nicht beobachtet wird. Aus dem Auftreten der Milchsäure zieht er den Schluß, daß die Gärung ein komplizierterer Vorgang ist, als bisher angenommen wurde, die sich nach folgenden Gleichungen vollzieht: $C_6H_{12}O_6 = 2C_3H_6O_3$ und $C_3H_6O_3 = CO_2 + C_2H_6O$.

Es ist also die Zymase nicht als ein einheitliches Ferment anzusehen, sondern sie setzt sich aus 2 Körpern zusammen; der eigentlichen Hefenzymase, welche den Abbau bis zur Milchsäure durchführt und der Lactacidase, welche im Sinne obiger Gleichung den Abbau weiterführt. Der Vortragende nimmt an, daß bei der Gärung durch lebende Hefe die Lactacidase immer von neuem gebildet wird, so daß der Abbau bis zum Ende verläuft, während beim Preßsaft ein Mangel an Lactacidase auftreten kann, die Gärung also nicht zu Ende geführt wird und so nicht weiter zersetzte Milchsäure auftritt.

Glycerinbildung scheint bei der zellfreien Gärung nicht vorzukommen.

Die mit der Hefe erzielten Resultate sind zunächst von der größten Bedeutung für die Biologie. Die katalytischen Fermente, die sogenannten Oxydasen, haben die größte Bedeutung und erklären wahrscheinlich ganz allein die bei der Atmung sich abspielenden Vorgänge. Von allergrößter Wichtigkeit aber wäre es, die erzielten Resultate auf die pathogenen Mikroorganismen zu übertragen. Es stellt sich hier allerdings als große Schwierigkeit der Umstand heraus, daß die Mikroorganismen nicht in den Massen zu beschaffen sind, wie sie für einen Preßversuch nötig sind. Er hofft, daß die Diskussion in dieser Beziehung anregend wirken wird.

Diskussion: Herr Friedenthal:

Er fragt zunächst an, welche Reaktion für den Ablauf der Preßsaftversuche die geeignetste wäre (Herr Buchner erwidert: die alkalische) und weist auf die Bedeutung der alkalischen Reaktion für sämtliche im tierischen Körper sich abspielenden Vorgänge hin. Des weiteren glaubt er nicht, daß die Reaktion bei der Gärung sich nach einer so einfachen Formel abspielt, wie es Buchner annimmt. Er glaubt vielmehr, daß sich Wasser in Gestalt von OH- und H-Gruppen direkt um den Kohlenstoffkern gruppiert.

Herr Buchner erwidert, daß eine derartige Theorie schon vor

längerer Zeit von Bayer aufgestellt sei und daß er schon lange nach dem Auftreten einer solchen Zwischensubstanz fahnde. Sollte sie gefunden werden, so würde dies die Sachlage allerdings im Sinne dieser Auffassung gestalten, vorläufig schwebt die Annahme in der Luft.

Herr Alfred Wolff-Eisner:

Herr Prof. Buchner hat auf die Bedeutung der Uebertragung der Preßversuche auf die pathogenen Bakterien hingewiesen; es erscheint ihm, als ob man das Problem bei den pathogenen Bakterien anders stellen müsse. Zwar erzeugen diese Bakterien ebenfalls Fermente, die denen der Hefe vergleichbar seien, z. B. ein die Gelatine verflüssigende und ein die Kohlehydrate unter der Gasentwicklung zersetzende. Das Wichtigste an den pathogenen Bakterien sei aber zweifellos die Eigenschaft, daß sie auf den Körper krankheitserregend resp. todbringend wirken.

Wenn wir nach den Stoffen fragen, welche diese Wirkungen haben, so drängen sich uns zunächst die Toxine auf; es ist jedoch in Betracht zu ziehen, daß von den pathogenen Bakterien nur zwei, die Diphtherie- und die Tetanusbazillen, wohlcharakterisierte Toxine bilden, deren Eigenschaften er kurz aufführt. Die große Mehrzahl der pathogenen Bakterien bildet keine Toxine, sondern enthalten die Gifte nur in ihrer Leibessubstanz; die Giftwirkung kommt nur dann zu stande, wenn die Leibessubstanz frei wird. Es ist dies in kurzen Zügen der Hauptinhalt der hochbedeutenden Endotoxinlehre von Richard Pfeiffer, welche unverständlicherweise noch nicht die ihr zukommende Beachtung gefunden hat.

Er weist darauf hin, daß hier eine vollkommene Analogie mit den Buchnerschen Presseversuchen dadurch gegeben ist, daß von dem Zellinhalt der Bakterien die Umsetzungen ausgehen, die, wenn die Stoffe in genügender Menge in Freiheit gesetzt werden, den Tod des Tieres zur Folge haben. Es wird der Apparat einer Buchnerschen Presse beim Versuch im Tierkörper darum unnötig, weil die in ihm vorhandenen lytischen Stoffe von selbst die Infreihetsetzung der in den Bakterien vorhandenen endocellulären Giftstoffe resp. Fermente bewirken.

Gegen diese endocellulären Giftstoffe gibt es keine Immunität, sondern es hat sich als grundlegendes Gesetz gezeigt, daß der Tierkörper gegen die Einverleibung dieser Giftstoffe immer empfindlicher wird. Weitere Versuche von ihm haben nun ergeben, daß den Bakterien keine Sonderstellung zukommt, sondern daß körperfremdes Eiweiß, z. B. Spermatozoen, Hirnsubstanz, ja Serum ebenfalls für den Tierkörper giftig ist und daß die Giftigkeit bei der Reinjektion so steigt, daß Tiere, welche die erste Injektion vertragen haben, eventuell an einer zweiten oder dritten Injektion bei gleicher Dosis der injizierten Substanz zu Grunde gehen.

Es ergibt sich also aus den Untersuchungen, daß die Giftwirkung der endocellulären Giftsubstanz der Bakterien in völlige Analogie zur Giftwirkung einer jeden körperfremden Eiweißsubstanz zu setzen ist. Die Unterschiede sind rein quantitativer Natur. In den Buchnerschen Preßsaftversuchen findet diese Erscheinung ihre befriedigende Erklärung: die endocellulären Giftsubstanzen der Bakterien sind im Moment der Wirkung eben nur als eine Eiweißsubstanz im Sinne des Buchnerschen Preßsaftes anzusehen.

Die Erscheinung der gesteigerten Empfindlichkeit bei der Reinjektion macht dem Verständnis Schwierigkeiten. Er erklärt diese Erscheinung

dadurch, daß bei der Reinjektion, wie man morphologisch beobachten kann, die Resorption eine beschleunigte ist.

Im Tierkörper werden die Verhältnisse dadurch so komplizierte, daß verschiedene einander entgegenwirkende Momente in Rechnung zu setzen sind, so vor allem bei der ersten Injektion die Tätigkeit der Leukocyten, die durch ihre oxydierende Tätigkeit (die man ebenfalls morphologisch mit der vitalen Färbung nachweisen kann), einen Teil des Giftes zerstören. Daß seine Anschauung vom Zusammenhang der gesteigerten Empfindlichkeit mit der beschleunigten Resorption die richtige ist, geht aus neuen Versuchen von ihm hervor, die er gemeinsam mit Herrn Rosenbaum angestellt hat. Wenn man von 2 Tieren gleichzeitig das eine mit mechanisch zerkleinertem Gehirnbrei und das andere mit Gehirnpreßsaft aus der Buchner-Presse in gleicher Dosis injiziert, so stirbt das Tier, das Preßsaft erhalten hat, schon früher. Bei beiden werden im wesentlichen die gleichen Substanzen injiziert, bloß hat das Tier, das Preßsaft erhält, günstige Resorptionsbedingungen, da bei ihm die endozellulären Giftsubstanzen nicht erst durch lytische Stoffe des Serums in Freiheit gesetzt werden müssen.

Diese Versuche, von denen er nur wenige anführen kann, lassen es wünschenswert erscheinen, Preßsaftversuche auch mit den pathogenen Bakterien anzustellen. Buchner hat schon auf die Schwierigkeit hingewiesen, pathogene Bakterien in genügenden Mengen zum Preßsaftversuch zu erhalten. Eine andere Schwierigkeit besteht darin, daß mit der Buchnerpresse keine sterilen Präparate zu erhalten sind, und daß außerdem nach Beschickung der Presse mit pathogenen Bakterien diese dauernd infiziert ist, da sie nicht desinfiziert werden kann. Um all diese Uebelstände zu vermeiden, ist er mit einer hiesigen Firma in Verbindung getreten, um ein Preßgefäß zu konstruieren von kleinen Dimensionen, das in das große hineingestellt wird. Er hofft in kurzer Zeit einen solchen Apparat vorführen zu können¹⁾.

Derartige Preßversuche sind bisher nur mit Tuberkelbacillen vorgenommen worden. Diese sind für Preßversuche ganz besonders ungeeignet, nicht nur, weil man, wie schon Buchner hervorhob, erst in 4 Wochen eine einigermaßen massige Kultur erhält, in der schon außerordentlich viel Individuen abgestorben sind, sondern vor allem auch darum, weil die Tuberkelbacillen in ganz besonders großen Mengen den Chitinmantel enthalten, der den Tuberkelbacillen ihre färberischen Eigentümlichkeiten verleiht, beim Preßversuche aber störende Zellschlacke bedeutet.

Herr Buchner erwidert, daß die im Tierkörper sich langsam abspielenden Auflösungsvorgänge nicht mit der schnellen in wenigen Stunden sich abspielenden Pressung der Hefezellen verglichen werden können.

Herr **Blumenthal** wendet sich dagegen, daß man Toxine mit Fermenten identifiziert²⁾. Herr Buchner erklärt, daß diese Frage durchaus noch nicht so gelöst sei, daß man hierüber ein endgültiges Urteil abgeben könne.

1) Inzwischen hat der Redner in einem größeren Vortrage über Eiweißgiftstoffe den von Lautenschläger angefertigten Apparat in der physiologischen Gesellschaft demonstriert.

2) Da die Fermente dadurch charakterisiert seien, daß sie in geringer Menge unbegrenzt viel Substanz umzusetzen vermögen, während die Toxine streng quantitativen Gesetzen folgen.

Bemerkungen des Referenten:

Wegen der vorgeschrittenen Zeit konnte ich nicht in der Sitzung nochmals das Wort ergreifen, und möchte deshalb hier hinzufügen, daß der Einwand des Herrn Prof. Buchner darum nicht zutrifft, weil die Auflösung von Bakterien im Tierkörper, z. B. im Pfeifferschen Versuch sich unter Umständen in wenigen Minuten vollzieht, also noch schneller als die Expression durch die Buchner-Presse, die einige Stunden in Anspruch nimmt. Herrn Blumenthal gegenüber bemerke ich, daß ich, wie immer, so auch diesmal, mich ja gerade dagegen gewendet habe, daß man die Toxine mit den Endotoxinen identifiziert.

Alfred Wolff-Eisner.

Nachdruck verboten.

Gesellschaft amerikanischer Bakteriologen.

Die siebente Jahresversammlung der Gesellschaft amerikanischer Bakteriologen wurde in dem neuen medizinischen Gebäude der Universität Michigan am 28. und 29. Dezember 1905 abgehalten. Der Präsident der Gesellschaft, Professor Edwin O. Jordan hielt die Eröffnungsrede über „Variation bei den Bakterien“.

Vorgelegt wurden die folgenden Arbeiten:

Russell und Hastings, Störungen in der Käsebildung, veranlaßt durch Laktose zerlegende Hefearten.

Die hier beschriebene Störung im Käsereifungsprozeß wird durch das Vorhandensein einer Milchzucker spaltenden Hefeart veranlaßt. Dieser Mikroorganismus wächst in Milch oder Molken mit großer Schnelligkeit, besonders wenn dieselben eine beträchtliche Menge Säure enthalten. Der Milchzucker wird zersetzt, und es entwickeln sich reichlich Alkohol und Kohlensäure sowie unerwünschte Geschmacksstoffe. Der diese Störung verursachende Mikroorganismus wird durch eine Temperatur von 60° C in 10 Minuten zerstört, ist jedoch im stande, der hohen Temperatur von 55° C, die bei der Bereitung von Schweizerkäse gebräuchlich ist, 35 Minuten lang zu widerstehen.

Dieser Typus eines Mikroorganismus wird ursprünglich durch gewisse, in der Schweiz vorherrschende Fabrikationsgebräuche in die Milch gebracht. Da ist zunächst der kalte Prozeß der Buttergewinnung. Die Molken werden einen Tag aufgehoben, damit das Fett sich absondern kann; hierdurch geht das Sauerwerden vorwärts und folglich entstehen günstige Bedingungen für die Entwicklung der fraglichen Hefearten.

Zweitens: Der natürliche Lab wird in allen sauren Molken aufgeweicht und diese Labextraktlösung der frischen Milch zugesetzt. Diese Vorgänge liefern geradezu ideale Bedingungen für die Wachstumsbedingungen der Hefekeime und lassen demzufolge eine Infektion der frischen Milch zu. Untersuchungen über die Verbreitung dieses Organismustypus zeigen, daß er in Gegenden, wo Schweizerkäse fabriziert wird, häufiger vorkommt als da, wo das amerikanische Cheddarsystem zur Anwendung kommt. Bisher sind die Hefen, mit Ausnahme von wenigen Fällen, nicht als wichtige Faktoren bei den Molkereiprozessen erkannt worden; aber wo die Herstellungsbedingungen die Entwicklung von Milchsäure erlauben, werden die Bedingungen für das Gedeihen dieses Typus günstig.

Esten, W. M., Wesleyan University, Milchsäurebakterien.

Seit der Veröffentlichung der Arbeit über „Säureorganismen in der Milch“ 1896 sind die in ihr skizzierten Forschungen weiter verfolgt worden. Das damals untersuchte Gebiet erstreckt sich nur von Ohio nach Maine aus. Seither sind Milchproben von fast allen Teilen der Vereinigten Staaten, ebenso von Kanada untersucht worden. Vermutlich hat keine Klasse von Bakterien mehr Verwirrung in Bezug auf Namen und Klassifikation verursacht als die Milchsäurebakterien. Eine gewisse Anzahl von Forschern hat dieselben Organismen unter verschiedenen Namen studiert.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen lassen zwei getrennte Gruppen von Milchsäurebakterien erkennen. Erstens die gasbildenden und zweitens die nichtgasbildenden Bakterien. Die erste Gruppe ist viel weniger wichtig als die zweite. Sie besteht aus *B. coli communis*, der nicht allzu häufig in der Milch vorkommt, und *Bact. lactis aërogenes* nebst seinen Varietäten. Dies ist der Hueppesche und Ecklessche *B. acidi lactici*. Der einzige Unterschied zwischen *B. coli* und *B. lactis aërogenes* scheint in der Beweglichkeit zu bestehen. Diese Gruppe ist bestimmt aërob und ist als eine der Milch und ihren Produkten schädliche Verunreinigung zu betrachten.

Die zweite Gruppe ist fakultativ anaërob und bildet niemals Gas in zuckerhaltigen Medien. Ihr scheint hauptsächlich die Bildung von Milchsäure obzuliegen. Obschon diese Gruppe mehrere Arten von Bakterien enthält, ist der Verf. doch der Meinung, daß nur eine Art nebst ihren Varietäten hier hinein gehört, nämlich *Bact. lactis acidi*, welcher Name ihm von Leichmann als der passendste gegeben wurde. In der Veröffentlichung 1906 wurde es irrtümlich *B. acidi lactici* genannt. Günther beging denselben Irrtum, daß er es für den Hueppeschen *B. acidi lactici* hielt. Folgende Namen sind diesem Organismus von verschiedenen Forschern gegeben worden: *Streptococcus acidi lactici* (Grotenfelt), *B. acidi lactici* (Günther), *Bact. lactis acidi* (Leichmann), *B. lactari* (Dinwidie), *Bacillus a* (Freudenreich) und noch andere mehr. In einer früheren Veröffentlichung wurden *B. lactis acidi* I und II anerkannt. Spätere Forschungen forderten die Ausscheidung von No. II, da es vermutlich eine degenerierte Form von No. I darstellte.

Die Merkmale von *B. lactis acidi* sind stets deutlich wahrnehmbar, wenn es auf Laktose-Lackmus-Gelatine in kleinen Kolonien gezüchtet wird, die etwa $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ mm im Durchmesser haben. Es gedeiht fast gar nicht an der Oberfläche. Unter Glimmerplatten wächst es stärker und bildet mehr Säure. Die Kolonien schwanken von dunkelopak bis hell mit dunklen Flecken oder Körnchen im mittleren Teil. Stumpfe Dornen oder Fortsätze können vorhanden sein oder fehlen. Dieses Kennzeichen wird durch die Dicke und den Feuchtigkeitsgehalt der Gelatine bestimmt. In sterilisierter Milch gerinnt es bei 37° C in 12 bis 24 Stunden, wonach keine weiteren Veränderungen auftreten. Auf laktosefreiem Agar wächst es nur spärlich und lebt höchstens ein bis zwei Wochen von irgend einer Sorte Agar. Auf Milch, Milchagar, Agar, Laktose und Dextrosebouillon gedeiht es am besten.

Wahrscheinlich gibt es mit Ausnahme einiger Bodenbakterien keinen für die Menschheit wohlthätigeren Mikroorganismus, wenn wir bedenken, daß längere Zeit aufbewahrte Milch, in der es fehlt, ein gefährliches

Produkt bildet. Milch, welche frei von Milchbakterien ist, bildet einen guten Nährboden für alle Arten von Fäulnisbakterien und Krankheitskeimen, während Milch, welche *B. lactis acidi* enthält, bald alle anderen Formen mittels ihrer Säure oder der Ueberhandnahme von Milchbakterien zerstört. Die Nützlichkeit des Bakteriums zeigt sich ferner darin, daß jedes Teil Sahne von angenehmstem Geschmack und jeder normal reife Käse 90–99 Proz. dieses Mikroorganismus enthalten.

Ward, Archibald, R., University of California, Quantitative Bestimmung von Leukocyten in Milch.

Die Bestimmung von Leukocyten in der Milch ist von mehreren Autoren als ein Mittel zur Entdeckung von Molkereien empfohlen, welche Milch von Kühen mit Euterentzündung auf den Markt bringen. Eine Reihe von doppelten Feststellungen von derselben Milchprobe wurde nach der Methode von Doane und Buckley von der Maryland Agricultural Experiment Station, College Park, Md. und nach der von Dr. Stewart vom Philadelphia Bureau of Health gemacht. Die Doane-Buckley-Methode ergab befriedigendere Resultate mit doppelten Feststellungen als die von Dr. Stewart. Die numerischen Ergebnisse bei der Methode Doane-Buckley waren etwa 4 bis 40mal höher als die, welche sich nach der Stewartschen Methode ergaben.

Slack, Francis, H., I. bakteriologischer Assistent am Laboratorium der Gesundheitsbehörde zu Boston, Die mikroskopische Schätzung der Bakterien in der Milch.

Der besondere Apparat zum Zentrifugieren der Milchproben besteht aus einer Aluminiumscheibe nebst Deckel von 10 Zoll im Durchmesser und $\frac{5}{8}$ Zoll Tiefe, welche 20 kleine strahlenförmig angeordnete Glasröhrchen halten kann. Jedes Glasröhrchen enthält etwa 2 ccm und wird an beiden Enden durch Gummistöpsel geschlossen. Die Proben in den Röhrchen werden 10 Minuten lang mit einer Geschwindigkeit von 2000 bis 3000 Umdrehungen in der Minute zentrifugiert und so wird das ganze Sediment von jeder Probe an dem nach außen gelegenen Glasstöpsel gesammelt. Das Sediment erhält man, indem man die Sahne abnimmt, die Milch ausgießt und den Stöpsel mit dem Sediment sorgfältig abnimmt. Man achte ja darauf, daß keine Milch auf das Sediment zurückläuft und es trübt. Man streicht es dann glatt mit einem Tropfen sterilisierten Wassers über eine etwa 4 qcm große Fläche einer Glasscheibe, die getrocknet und mit Methylenblau gefärbt ist.

Die mikroskopische Untersuchung ergibt die annähernde Zahl und Morphologie der vorhandenen Bakterien, ebenso die Gegenwart von Eiter und Streptokokken.

Die Anzahl der in einem Gesichtsfeld bei $\frac{1}{12}$ Oelimmersion gefundenen Bakterien zeigt eine ziemlich konstante Beziehung zu der 1–10000 Plattenkultur (gezüchtet während 24 Stunden in einer gesättigten Atmosphäre bei 37° C, wobei 1 Proz. Agar mit einer Reaktion von + 1,5 benutzt worden war).

Mithin repräsentiert bei einer annähernden Schätzung jeder Coccus, Bacillus, Diplococcus oder Kette in einem Gesichtsfeld bei $\frac{1}{12}$ Oelimmersion 10000 Bakterien für 1 ccm der untersuchten Milchprobe.

Folgendes sind die Vorteile des Verfahrens: Schnelligkeit der Untersuchung, Genauigkeit, leicht erlernbare Technik, Fehlen kostspieliger Apparate.

Verf. glaubt, daß die Methode in erfahrenen Händen sicher zum Beurteilen von Milch verwandt werden kann. Die Bescheinigung der bakterienfreien Milchproben, die große Anzahl von Proben, welche untersucht werden können und die größere Sicherheit der Ueberwachung wiegen reichlich die etwas größere Genauigkeit beim Berechnen der Platten auf.

Heinemann, P. G., University of Chicago, Bakterienarten, die beim Sauerwerden der Milch beteiligt sind.

Alle sogenannten Milchsäurebakterien gehören zwei Gruppen an: der Colon-Aërogenes-Gruppe und der Streptococcus-Gruppe. Zu dieser Anordnung gelangt man durch ein vergleichendes Studium der Kulturmerkmale der pathogenen-, Abwässer-, Faeces- und Milchstreptokokken. Die koagulierende Kraft der pathogenen-, Abwässer- und Faecesstreptokokken kommt derjenigen der Milchstreptokokken durch wiederholte Durchgänge durch Milch gleich. Milchstreptokokken bilden lange Ketten in Laktosebrühe; die Ketten verschwinden nach Einimpfung in Lackmilch und an ihrer Stelle erscheinen charakteristische Diplokokken und kurze Ketten von drei bis sechs Gliedern. Künstliche Milchsäuregärungen, die durch Einimpfung von Milchsäurebakterienreinkulturen beider Gruppen oder von Kuhfaeces in sterilisierte Milch erzielt worden waren, gleichen genau dem natürlichen Prozeß. Die Untersuchung führte zu den nachstehenden Schlußfolgerungen:

1) *B. acidilactici* ist eine Fabel. Die gewöhnlichen Milchgärung erzeugenden Bakterien sind *B. aërogenes* var. *lacticus* und *Streptococcus lacticus*. Die Möglichkeit ist nicht ausgeschlossen, daß *B. coli* bei der Milchgärung beteiligt ist.

2) *Streptococcus lacticus* (Kruse) stimmt morphologisch, kulturell wie auch hinsichtlich seiner koagulierenden Eigenschaften mit den pathogenen-, Faeces- und Abwässerstreptokokken überein.

3) Sauerwerden der Milch wird durch Zusammenwirken beider Bakteriengruppen verursacht; auch haben die jederzeit in der Milch vorhandenen peptonisierenden Bakterien Teil daran.

4) Gas wird von *B. aërogenes* var. *lacticus* erzeugt; seine Tätigkeit wird aber gewöhnlich in Schach gehalten und schließlich unterbunden durch das Vorhandensein und endliche Uebergewicht von *Streptococcus lacticus* (Kruse).

5) Säure wird merklich während der Milchgärung von beiden Gruppen von Organismen gebildet. *B. aërogenes* var. *lacticus* ist empfindlicher gegen das Vorkommen von Säure als *Streptococcus lacticus* (Kruse). Dies kommt daher, daß *B. aërogenes* reichlicher in den Anfangsstadien der Gärung vorhanden ist, während *Streptococcus lacticus* (Kruse) in den späteren Stadien das Feld behauptet.

6) Milchsäurebakterien stammen aus den Eingeweiden und kommen mit Teilchen von Kuhmist in die Milch.

7) Künstliche Milchsäuregärung in sterilisierter Milch kann durch Impfung mit Reinkulturen jeder Bakteriengruppe oder besser der beiden Gruppen zusammen erzeugt werden.

8) Da *Streptococcus lacticus* (Kruse) sich unweigerlich in frischer mit großer Vorsicht entnommener Milch vorfindet, so erfordert die gesundheitliche Bedeutung von Streptokokken in der zum Verkauf bestimmten Milch weitere Untersuchung.

Prescott, S. C., Massachusetts Institute of Technology. Bemerkung über die Indol erzeugenden Bakterien. (Vorläufige Mitteilung.)

Das Vorkommen von Indol erzeugenden Bakterien in die Milch legt die Möglichkeit eines Zusammenhanges nahe zwischen diesen Organismen und den Darmkrankheiten, welche so oft Kinder, die mit roher Milch ernährt werden, heimsuchen, und zwar besonders in den großen Städten, wo die Milch oft 48 Stunden alt wird, ehe sie zum Verbrauch gelangt.

Eine große Anzahl frischer, von etwa 175 verschiedenen Gütern gesammelter Milchproben sind auf ein etwaiges numerisches Verhältnis zwischen den Indolbakterien und der Gesamtzahl der in der Milch vorhandenen Bakterien hin untersucht worden. Die Proben waren durchschnittlich etwa 6 Stunden alt, als sie zur Untersuchung kamen. Die Gesamtzahl wurde in der gebräuchlichen Weise durch Agarplattenkulturen (Reaktion I) bei 37,5° festgestellt. Es wurden Verdünnungen von 1 bis 10000 angewandt, Indol wurde durch Einimpfung von $\frac{1}{100}$ ccm Milch in eine Röhre mit Peptonlösung festgestellt, die 3 Tage bei 37,5° im Brutschrank gehalten und dann auf Indol durch Beifügung einer geringen Menge von Natriumnitrat und 1 ccm Schwefelsäure 1:1 geprüft wurde.

Insgesamt wurden 524 Proben geprüft, die in Gesamtzahlen von weniger als 5000 bis 121000 Bakterien pro Kubikcentimeter aufwiesen. Von diesen wiesen nur 38 Proben über eine Million auf. 132 Proben oder noch genauer 25 Proz. ergaben eine starke Indolreaktion. 278 Proben, bei denen die Bestimmung quantitativ ausgeführt wurde, zeigten folgendes Verhältnis zwischen Gesamtzahl und dem Vorkommen von Indol:

| | Proben | Indol aufweisend | Proz. |
|--------------------------------|--------|------------------|-------|
| Ueber eine Million | 13 | 9 | 70 |
| Zwischen 500 000 und 1 000 000 | 2 | 1 | 50 |
| Zwischen 100 000 und 500 000 | 34 | 14 | 41 |
| Unter 100 000 | 229 | 32 | 14 |
| 25 000 oder noch weniger | 133 | 17 | 12 |

Harding, H. A. und Prucha, M. E., Agricultural Experiment Station, Geneva, N. Y. Absorbierende Baumwolle als ein Mittel zur Verbreitung von *Pseudomonas radicum*.

Aufsaugende Baumwolle, in Papier und Zinnblech gewickelt, wird jetzt vielfach als Mittel zur Verbreitung von *Ps. radicum* benutzt. Die große Anzahl von Fehlschlägen bei Verwendung dieser Methode im Gegensatz zu dem hohen Prozentsatz von Erfolgen bei Einlegen der Keime in den Boden führte zu einer Untersuchung der Verpackungen von geimpfter Baumwolle.

Bei dieser Untersuchung wurden die Weisungen auf den Packungen so genau wie möglich befolgt, nur wurden sterile Lösungen benutzt, um das sich ergebende Wachstum auf die sich tatsächlich auf der Baumwolle befindenden Keime zu beschränken.

Die wiederholte Prüfung von 25 einzelnen Baumwollpackungen ergab nur eine zufällige Kolonie, welche *Ps. radicum* glich, in den meisten Fällen wurde nicht eine einzige verdächtige Kolonie gefunden.

Um diese Untersuchung auf ihre Genauigkeit hin zu prüfen, wurden Doppelproben von sechs Packungen in den Laboratorien von Prof. D. D. Chester und DD. C. E. Marshall, E. M. Houghton und J. G. Lipman untersucht. Das Fehlen von *Ps. radicum* in



der geimpften Baumwolle wurde durch die Unfähigkeit der Keime, der begleitenden Austrocknung zu widerstehen, erklärt.

Zwei verschiedene Laboratoriumsprüfungen mit Bouillonkulturen von *P. s. radicicola* auf sterilisierter aufsaugender Baumwolle zeigten, daß alle Keime, mit Ausnahme eines zufällig vorhandenen, innerhalb weniger Tage starben.

Bei Anbaubedingungen unterdrückt die meist in die Flüssigkeit eindringende Verunreinigung die wenigen überlebenden *P. s. radicicola*. Die Einzelheiten dieser Arbeit finden sich in dem New York Agr. Exp. Station Bulletin 270.

Kellermann, Karl F. und Beckwith, T. D., Bureau of Plant Industry, Washington D. C., Die Bakterien der Wurzelknötchen der Leguminosen.

Für diese erste vorläufige Mitteilung sind Mikroorganismen von vier Hülsenfrüchten untersucht worden: Velvetbohne, Sojabohne, Gartenerbse und Luzerne. Unsere Laboratoriumsversuche ergaben kurz folgendes: Rindfleischagar (nach dem von der American Public Health Association angenommenen Rezept bereitet): Kreisförmige Oberflächenkolonien, etwas konvex, ziemlich feucht, glänzend, strohfarbig, 1 bis 6 mm im Durchmesser. Unter der Oberfläche befindliche linsenförmige Kolonien, konvex nachdem sie die Oberfläche erreicht haben. 3,5 zu 5 oder bis 0,25 zu 0,5 im Durchmesser.

| | |
|----------------------------------|-----------|
| Zusammengesetzter Agar (Agarmehl | 10,0 g |
| Magnesiumsulfat | 0,2 g |
| Kaliumphosphat (monobasisch) | 1,0 g |
| Rohrzucker | 10,0 g |
| Filtriertes Leitungswasser | 1000 ccm) |

Kreisförmige, durchscheinende, konvexe, feuchte, glänzende Oberflächenkolonien von 1,5 bis 4 mm im Durchmesser.

Zusammengesetzter Agar (wie oben + 4 g dibasisches Ammoniumphosphat. Kreisförmige, etwas konvexe, glänzende Oberflächenkolonien von 1 bis 5 mm im Durchmesser).

Unter der Oberfläche befindliche, linsenförmige, nach Erreichen der Oberfläche konvexe Kolonien, 0,25 zu 0,5 bis 2,5 zu 5 mm im Durchmesser.

Verflüssigt weder Rindfleisch noch zusammengesetzte Gelatine, erzeugt kein Indol, aërob. Bildet weder Nitrite, noch Nitrate, noch Gas.

Lackmus-Milch: Der Mikroorganismus der Velvetbohne erleidet anscheinend keine Veränderung innerhalb von 7 Tagen bei 28° C. nach 16 Tagen ist der Lackmus fast farblos; auch hat sich etwas Säure gebildet. Sojabohne verhält sich ähnlich, nur wird die Milch kaum sauer und daher Kasein nur sehr langsam niedergeschlagen.

Der Mikroorganismus der Luzerne andererseits erzeugt deutlich Alkali und bildet ein klebriges Häutchen.

Kartoffelcylinder: Der Mikroorganismus der Velvetbohnen wächst farblos bis grauweiß und eben.

Der Mikroorganismus der Sojabohne wächst sich nach allen Seiten ausbreitend, halb lehm-, halb lederfarbig, der der Luzerne farblos bis weißlich grau; die farblosen Flächen sind von den weißlichen getrennt und sehen wie geronnen aus.

Harrison, J. C., Agriculture College, Guelph, Ontario, Bemerkungen über Klassenräume und Laboratoriumsarbeit.

- 1) Methode des Nachschreibens bei Vorträgen.
- 2) Material für Tischplatten.
- 3) Demonstration von Gasbildung: a) mit aufsaugender Baumwolle, b) mit kleinen Röhrchen innerhalb der Teströhrchen, c) mit der modifizierten Dunhamröhre.
- 4) Verhütung von Feuchtigkeit auf Agarplatten.
- 5) Methode, um Gelatineplatten zu Demonstrations- und Museumszwecken zu präparieren.
- 6) Verschiedene Formen von Koloniezählern.
- 7) Methode, um Stammkulturen aufzubewahren.
- 8) Teströhrchenbehälter zum Sterilisieren.
- 9) Geißelfärbung zu Unterrichtszwecken.
- 10) Tinte, um auf Glas zu schreiben.

Referate.

Meyer, Arthur, Ueber Kugelbildung und Plasmoptyse der Bakterien. (Berichte der Deutschen botanischen Gesellschaft. Bd. XXIII. Heft 8. November 1905.)

Plasmoptyse hat Alfred Fischer den Vorgang benannt, der im Austritt von Protoplasma aus der Bakterienzelle, Abrundung der ausgetretenen Plasmamassen und deren Umhüllung mit einer Membran besteht. Dieser Vorgang soll sowohl einer Reihe von Involutionsformen bekannter Bakterien in alten Kulturen zu Grunde liegen als auch der Granulabildung, die die Bakterien bei Behandlung mit bakterizidem Serum erfahren. Die gebildeten Kugeln sollen meist im Besitze von Geißeln und lebensfähig sein. Verf. untersuchte den Vorgang der Kugelbildung beim *B. cylindricus*, wo die Kugelbildung eine sehr auffällige ist und oft direkt den Eindruck von Verunreinigung mit hefeartigen Individuen in der Kultur macht. Uebergänge zwischen Stäbchen- und Kugelform fehlen; dagegen kommen Stäbchen mit daransitzender Kugel zuweilen vor. Durch bestimmte Versuchsanordnung gelang es, die Entstehung dieser Kugeln direkt zu beobachten. Die Kugelbildung beginnt an einem Ende des Stäbchens, allmählich gestaltet sich der ganze Bacillus birnförmig und rundet sich schließlich zur Kugel. Es handelt sich also um eine Umformung eines Stäbchenbakteriums in ein Kugelbakterium, und nicht, wie Fischer meint, um Protoplasmaustritt.

Die Kugelbildung ist eine Krankheitserscheinung, die zum Tode der Oidien führt; denn eine Probe reinen Kugelmateriale wächst nicht auf Agar. Wahrscheinlich werden die in der Kolonie gebildeten Kugeln später weiterverarbeitet (Fermente?), schrumpfen und bilden schließlich Granula.

Ueber die Ursache der Kugelbildung gibt Verf. nur Vermutungen an.
Seligmann (Berlin).

Lafar, Handbuch der Technischen Mykologie. 2. Aufl. Jena (G. Fischer) 1905. [4. Fortsetzung.]

Vom 2. Bande (9. Lieferung des Handbuches) sind bis jetzt zwei Abschnitte erschienen. In diesen bespricht Prof. Dr. Weigmann-Kiel die Herkunft der Bakterien der Milch und deren Gärungen, sowie den Abbau ihrer Bestandteile. Im 1. Kapitel beansprucht die so wichtige

Frage über die Herkunft der saprophytischen Bakterien und die Abhängigkeit der Bakterienflora der Milch von den Verhältnissen bei der Gewinnung einen entsprechend breiten Raum und § 1 behandelt die auch heute noch nicht abgeschlossene Frage, ob die Elemente der Milchdrüse die Milch keimfrei ausscheiden. Nun sind seit der Drucklegung dieser Lieferung des Handbuches zahlreiche Arbeiten erschienen, welche zur vorstehenden Frage neues Material bringen. An dieser Stelle aber sei nur auf Bergeys (Philadelphia) Arbeit verwiesen, welcher in einer großen Zahl von Untersuchungen die Sterilität aseptisch gewonnener Milch nachweist und sich somit den vereinzelt in § 1 erwähnten Forschern, welche gleiches Resultat bereits erzielt haben, anschließt. Gegenteilige Ergebnisse dürften sich jedenfalls durch eine mangelnde Methodik und mögliche Arbeitsfehler erklären.

Jedenfalls aber findet hiermit die Lehre von der Keimfreiheit der Gewebe und Organe im Inneren des Tierkörpers (Kapitel 22) weitere Bestätigung.

Bezüglich der ohne Asepsis gewonnenen Milch gibt Lux an, daß der Bakteriengehalt in den aufeinanderfolgenden Strahlen einer Zitze verschieden groß ist. (Die noch nicht veröffentlichten Versuche von Trommsdorff und Rullmann ergaben nicht nur eine Verschiedenheit des Keimgehaltes der verschiedenen Strahlen, sondern auch der vier einzelnen Zitzen. Anmerkung des Referenten.)

Aus § 4 — Baktericidie der Milch — sei nur der durch die angeführten Arbeiten gerechtfertigte Schlußsatz hervorgehoben, daß man eine bakterizide Eigenschaft der Kuhmilch und auch vielleicht der Milch anderer Säugetiere als bestehend annehmen darf.

Bezüglich der „Infektion der Milch von außen her“ werden in § 5 eine große Anzahl von Beweisen erbracht, welche den günstigen Einfluß der verschiedenen Reinlichkeitsmaßregeln bestätigen. Interessant sind die Nachweise Harrisons, nach welchen der erwartete günstige Einfluß der „Thistle“-Melkmaschine sich nicht bestätigte, sondern ergab, daß die mit der Hand gemolkene Milch 1069 bzw. 12890 Keime in 1 ccm hatte, während die mit der Melkmaschine gemolkene sogar 146595 bzw. 165033 Keime in 1 ccm enthielt, also ein ungünstiges Plus von mehr als zehnfacher Höhe. Bessere Resultate scheinen mit der Murchland-Melkmaschine erzielt zu werden. — Daß die Auffang- und Transportgefäße, deren Zustand auch von wesentlichem Einflusse auf die Bakterienvermehrung sind, ist ebenso natürlich wie der Einfluß der Reinlichkeit des Melkers an sich und seiner Kleidung.

Zur eingehenden Information seien die Paragraphen über die in der frisch gewonnenen Milch enthaltenen Bakterienarten, ferner die Abhängigkeit der Bakterienflora der Milch von der Stallluft, vom Streumaterial und von der Weide, sowie dem Einfluß des Futters auf die Milchflora empfohlen.

Im 2. Kapitel wird die Herkunft der parasitischen Bakterien in der Milch und die Beziehungen der Milch zur Verbreitung von Krankheiten in einer der Wichtigkeit dieses Themas entsprechenden Ausführung (p. 18—48) behandelt. Daß häufig der Genuß roher Milch Gesundheitschädigungen hervorruft, basiert auf vielseitigen Beobachtungen sowohl bei Einzelerkrankungen als auch bei Epidemien, ob aber immer mit Sicherheit die Milch als Ursache der Erkrankungen anzunehmen ist, bedarf jedesmal des unanfechtbaren Beweises. Für die Auffindung des

Infektionsherdes kommt zunächst die Art der Krankheit in Betracht, und ist durch diese bereits ein Fingerzeig gegeben, ob die Erkrankung tierischen oder menschlichen Ursprunges ist. So steht nunmehr die Uebertragung der Aphthenseuche (Maul- und Klauenseuche) auf Menschen durch Vermittelung der Milch fest, ja sogar durch Butter und Käse, welche aus derartig infizierter Milch gewonnen sind, wurden Uebertragungen mit Sicherheit nachgewiesen. Aktinomykose (Band III, p. 206) tritt nicht selten im Kuheuter auf und ist es wahrscheinlich, daß dann auch der Strahlenpilz im Euter enthalten ist und somit dessen Uebertragung zu den Möglichkeiten gehört.

Die Frage, ob beim Milzbrand der Krankheitserreger in der Milch enthalten ist, bedarf des Beweises (p. 19—20). Obwohl die Milch ein guter Nährboden für *B. anthrac.* ist, geht dieser nach Inghilleri in ungekochter Milch bei eingetretener Säuerung, wenigstens die vegetativen Keime, zu Grunde. Die unangegriffenen Sporen allerdings erhalten die Milch infektiösfähig. Ebenso wird von Infektionen berichtet, welche Milch lungenseuchekranker Kühe, ganz besonders bei Kindern, mit tödlichem Ausgang hervorrief; Milch von Kühen, welche durch tollwütige (Rabies) Hunde gebissen sind, ist zwar nicht immer gefährlich, aber besonders bei vorhandenen Verletzungen im Munde oder im Darmtraktus mindestens sehr bedenklich. Entschieden unappetitlich und gesundheitsgefährlich ist die Milch von an Euterentzündung (Mastitis) leidenden Kühen; in diesem Falle handelt es sich um Strepto- und Staphylokokken. Auch die an Darmentzündung (Enteritis) leidenden Kühe sondern eine bei Kindern zu choleraartigen Erkrankungen führende Milch ab; die Seiten 18—22 enthalten die Anführung einzelner hochinteressanter Infektionsfälle.

Sehr eingehend ist der Wichtigkeit entsprechend die Verbreitung der Tuberkulose durch Milch behandelt und im § 11 folgt im Anschlusse die Nachweisung der Tuberkelbacillen in der Milch und Milchprodukten, ferner die Häufigkeit ihres Vorkommens und ihre Lebensdauer darin, und sei auf die Zusammenstellungen auf Seite 30—31 aufmerksam gemacht.

Auch die Artikel über rohe Milch als Verbreitungsmittel von Typhus, Cholera, Scharlach, Diphtherie u. s. w., ferner über die Größe der Gefahr beim Genusse von Milch und die Mittel zur Abwehr beanspruchen weitgehendstes Interesse und enthalten ein reiches, mit großem Fleiße gesammeltes Material.

Der 2. Abschnitt, welcher die Gärungen der Milch und den Abbau ihrer Bestandteile bringt, beginnt mit dem Geschichtlichen über die Milchsäuregärung und zeigt uns, daß 1780 Scheele die Milchsäure als bestimmt charakterisierten chemischen Körper erkannte, während Boutron-Charlard und Fremy sie zuerst als Gärungsprodukt feststellten und Pasteur 1857 die Ansicht niederlegte, daß die Milchsäuregärung das Werk von organisierten Fermenten sei.

Das Verdienst, die Kenntnisse über das Wesen der Milchsäuregärung bedeutend gefördert zu haben, aber gebührt Hueppe; dieses Autors und seiner Schüler Forschungen, sowie die später folgenden von Leichmann und Weigmann, welche auch die Verschiedenheit von *Bacillus acidilactici* und *Bacterium lactis acidilactici* begründeten, führten zu der jetzt feststehenden Erkenntnis, daß man zwei Typen dieser Milchsäurebakterien als Erreger der Milchsäuerung, wenn auch nur als Kollektivarten, aufstellen kann.

Daß die bei der Milchsäuregärung stattfindenden Umsetzungen in der Milch in einer Spaltung von Milchzucker in Milchsäure bestehen, ist bekannt, weniger aber, daß nicht aller vorhandene Milchzucker in Säure umgewandelt wird, und zwar ist dies durch die gebildete Säure selbst begründet, da sie schwächend und hemmend auf die Vermehrung und Tätigkeit der Bakterien einwirkt. Durch vorsichtiges Neutralisieren kann aber eine vollständige Umsetzung alles Milchzuckers in Milchsäure herbeigeführt werden.

Die Bildung der Milchsäure führt eine chemische und physikalische Aenderung der Milch durch das Gerinnen herbei und der hauptsächlichste Milcheiweißstoff, das Kasein, scheidet sich aus; ist die Ausscheidung eine vollkommene, so bildet sich über dem Koagulum das grünlich-gelbe Serum, in welchem sich das durch die Trennung vom Kasein an die Säure gebundene Kalksalz, die überschüssig entstandene Säure und neben anderen, unveränderten Bestandteilen der Milch (Albumin, Globulin, Milchzucker, der größere Teil der Salze) noch saure phosphorsaure Salze befinden. Der genauere quali- und quantitative Verlauf der Milchsäuregärung ist erst in neuerer Zeit durch die Arbeiten von J. Lehmann und Söldner aufgeklärt worden und Courant hat gezeigt, daß es drei Kalk-Kaseinverbindungen gibt.

Von besonderer Wichtigkeit auf den Vorgang der Säuerung wie auch auf die Abscheidungen von Lab sind die phosphorsauren Salze, welche ebenfalls hierbei eine wesentliche Aenderung erleiden, über welche Timpe (p. 52) aufklärt.

Die §§ 16 und 17 besprechen die bei der Säuerung der Milch entstehenden Mengen Milchsäure und die Nebenprodukte der Gärung und führen die verschiedenen Säurebestimmungsmethoden (p. 53—67) an.

Die im 4. Kapitel folgende Morphologie der Milchsäurebakterien beginnt mit den älteren Beschreibungen dieser Arten und geht dann auf die Unterscheidung zwischen den zwei hauptsächlichsten Vertretern der Milchsäurebakterien der Milch über; am Schlusse des § 20 wird noch erwähnt, daß Beijerinck die „aktiven“ Milchsäurebakterien in Laktokokken und Laktobacillen einteilt (p. 82). Die Zusammenfassung der verschiedenen Arten zu den Kollektivarten *Streptococcus lacticus* (*Bact. lactis acidi*) und *Bac. aërogenes* Kruse, sowie die Versuche zu einer Abgrenzung der Varietäten müssen dem Einzelstudium überlassen werden.

Das 5. Kapitel — Biologie der Milchsäurebakterien — beginnt bezüglich der Herkunft der Milchsäurebakterien mit einander sehr widersprechenden Angaben. Diese Bakterien finden sich, wie schon erwähnt, im Euter nur selten vor, sie gelangen gewöhnlich durch Heustaub, noch mehr wohl von den täglich benutzten Gefäßen aus in die Milch. Während Leichmann sie in Heu, Stroh und Staub fand, konnte v. Freudenreich sie in Wasser, Erde und Luft nicht, wohl aber in der Stallluft, auf der Haut und an den Haaren der Kühe konstatieren, dagegen wieder nicht im Strichkanal der Zitzen und am Eingang zu denselben, auch nicht im Kot. Ein nahezu umgekehrtes Resultat erhielt Esten, welcher seinen Milchsäurebacillus in Heu und Stroh nicht ermitteln konnte, ihn dagegen in direkt von der Kuh kommender Milch findet. Diesem widerstreitet Burr, der diesen Bacillus, wie auch *B. acidilactici* II und *B. lactis aërogenes* bei 300 Untersuchungen in der Vormilch der Kühe nur 6mal finden konnte, dagegen konstatierte, daß sie im Staube des Stalles vorhanden sind.

Bezüglich des Verhaltens der Milchsäurebakterien zu den stickstoffhaltigen Nährböden haben Hueppe und auch Kayser gefunden, daß die beste Stickstoffquelle Pepton ist, so zwar, daß nicht nur die Menge der darin wachsenden Milchsäurebakterien, sondern auch deren Stickstoffgehalt davon abhängig ist. Durch gute Ernährung mit Pepton kann der Gehalt hieran so angereichert werden, daß er dem des Eiweißes nahekommmt; Beijerincks Behauptung aber, daß tierische Peptone sich noch besser als pflanzliche hierzu eignen, dürfte kaum haltbar sein. Auf Seite 89 ist eine diesbezügliche sehr interessante Zusammenstellung angefügt.

Während nun die Milchsäurebakterien im allgemeinen recht hohe Ansprüche an das Nährmedium und besonders an die Stickstoffquelle stellen, gedeihen einzelne auch schon in sogenannten künstlichen Medien auch bei fehlenden Eiweißstoffen; so auf der später zu erwähnenden Uschinskyschen Lösung und auf weinsaurem Ammoniak allein, während Nitrate ungenügend sich verhalten. Aber selbst die aus genuinen Nahrungsmitteln bereiteten Nährmedien sowie diese selbst sind nicht gleich günstig für das Gedeihen der Bakterien. Nach Hennsberg wachsen im Hefenwasser und Hefenextrakt sehr viele Milchsäurebakterien, aber in Milch, diesem alle Nährstoffe in günstiger Form enthaltenden Nährboden, in welchem doch die aus dem Molkereibetriebe stammenden Bakterien vorzüglich gedeihen, wachsen die aus der Brauerei und Brennerestammenden Milchsäurebakterien nicht oder nur schlecht. Weitere Differenzierungen zeigen sich beim Bier.

Auf festen Nährböden wachsen die Milchsäurebakterien bedeutend weniger gut. Das langsamere Wachstum auf Gelatine ist wohl durch die hierbei notwendige niedere Temperatur bedingt und sei hier auf die bezüglich rascheren Wachstums sich eignende Kasein gelatine (p. 90) und Käse gelatine aufmerksam gemacht.

Nächst den Eiweißstoffen sind zuckerartige Kohlenwasserstoffe die besten Nährmedien für die Milchsäurebakterien, denn wenn sie auch aus Eiweißstoffen Milchsäure bilden zu können scheinen, so ist doch die Gegenwart von Zucker zu einem kräftigen Wachstum und reicherer Bildung von Milchsäure notwendig. Auf p. 92—93 ist eine sehr ausführliche Tabelle niedergelegt, welche alle bis jetzt vorhandenen Angaben über die Vergärbarkeit der verschiedenen Kohlenhydrate enthält.

Die §§ 25 und 26 beleuchten das Verhalten der Milchsäurebakterien zu Säuren, Salzen und Sauerstoff sowie das Temperaturoptimum.

Die Enzyme folgen in § 27. Analog dem in den Hefen enthaltenen, die Alkoholgärung bewirkenden Enzyme versuchte Kayser seiner Zeit, allerdings erfolglos, bei Milchsäurebakterien ein extracellulär wirkendes Enzym zu finden, später aber gelang es Herzog nach E. Buchners Angaben, durch einen aus Reinkultur von *Bac. acidilactici* Hueppe mittels Kieselgur erhaltenen Preßsaft aus Milchzucker Milchsäure zu bilden und dann wurde durch E. Buchner und J. Meisenheimer auch für den *Bac. acidific. longissim.* Lafar das Vorhandensein eines die Säuerung hervorrufenden Enzymes festgestellt. Hiernach ist anzunehmen, daß allgemein den Milchsäurebakterien ein den Zucker in Milchsäure umwandelndes Enzym zukommt und darf bei den auch Rohrzucker vergärenden Milchsäurebakterien ferner noch ein hydrolytisches Enzym (Invertase) angenommen werden.

Bezüglich der peptonisierenden Enzyme haben die neuesten Untersuchungen ergeben, daß die Milchsäurebakterien eine Peptonisierung

im eigentlichen Sinne nicht und eine Zersetzung von Kasein und Parakasein nur dann in einem bemerkbaren und beachtenswerten Grade bewirken, wenn die von ihnen erzeugte Säure entweder sogleich abgestumpft wird oder eine Säurebildung infolge mangelnder Kohlenhydrate überhaupt unmöglich ist. Daß mehrere Arten von Milchsäurebakterien ein peptonisierendes Enzym enthalten, geht schon aus dem Adjektivum „liquefaciens“ hervor.

Den Schluß des 5. Kapitels bildet die Betrachtung über die Lebensdauer der Milchsäurebakterien unter verschiedenen Verhältnissen, sowie Degenerationserscheinungen an denselben; es ergibt sich, daß die Milchsäurebakterien auf künstlichen Nährmedien am wenigsten lange durch Ueberimpfung ihre Eigenschaften behalten, dann folgt bezüglich der Zeitdauer die sterile Milch und am längsten vermag sie rohe Milch zu erhalten.

Dem *Bacterium coli commune* und *Bact. lactis aërogenes* nebst Varietäten ist das 6. Kapitel gewidmet und damit deren Wichtigkeit für das Molkereigewerbe hervorgehoben, fehlen doch auch Vertreter dieser Gruppen selten in der Milch, da sie als Bewohner des tierischen Kotes leicht in dieselbe gelangen. Diese beiden Gruppen umfassen eine große Zahl morpho- und biologisch ähnlicher Bakterien; sie stehen selbst einander so nahe, daß man geneigt ist, sie zu einer Gruppe zu vereinigen. Wie schon im 4. Kapitel erwähnt, stehen sie auch zu den Milchsäurebakterien in engster Beziehung. Daß *B. coli commune* Trauben- und Milchzucker in CO_2 und H_2 umsetzt, ist bekannt, aber weniger, daß es auch Essig-, Bernstein-, Ameisen- und Milchsäure und etwas Alkohol bildet und Remington und Kusel haben auch Methan und Stickstoff in dem produzierten Gasmisch gefunden. Manche Rassen vergären auch Rohrzucker und in Peptonbouillon entsteht H_2S und Indol, doch soll letzteres sich nicht immer bilden. Während Lehmann die infolge Säurebildung eintretende Gärung als ein Charakteristikum für *B. coli* hinstellt, widersprechen Matzschita u. a. diesem Satze. So unterscheiden auch Germano und Maurea ein unbewegliches *B. coli*.

Bacterium lactis aërogenes sowie die ganze Sammelart *B. aërogenes* unterscheiden sich morphologisch und kulturell nur sehr wenig und in manchen Stämmen fast gar nicht von *B. coli*. Das einzige vorläufig noch durchgreifende Merkmal ist die Unbeweglichkeit und das Fehlen der Geißeln bei *B. aërogenes*. Die Zellen dieses Bakteriums sind gewöhnlich etwas plumper und kürzer als die von *B. coli*, auch Gelatinestichkulturen zeigen Unterschiede. Sehr eingehend sind von Baginsky und Emmerling die Stoffwechselprodukte (p. 107) untersucht. Die Geschmacks- und Geruchsprodukte, welche die *Aërogenes*-Bakterien in der Milch hervorrufen, sind im Anfang nicht immer unangenehm, bilden sie doch zuweilen aromatische Ester, jedoch leiden beim Aelterwerden diese guten Einwirkungen und sind solche bei der Käsefabrikation durch starke Gasbildung gefährlich. Ferner stehen sie in Beziehung zu den Eutererkrankungen und können bei Säuglingen Darmerkrankungen hervorrufen.

Kapitel 7 enthält die Buttersäuregärung und bringt zunächst das Geschichtliche hierüber, dann die älteren Beschreibungen der Buttersäurebakterien anschließend. Auch diese Gärung ist schon lange ein Gegenstand eifrigster bakteriologischer Forschung, doch haben auch hier erst die letzten Jahre wirkliche Aufklärung über die Art des Vorganges und

die Erreger selbst gebracht, waren doch erst die Schwierigkeiten der Reinzucht zu überwinden. Auch hier gebührt Pasteur das Verdienst, den Vorgang der Buttersäuregärung im wesentlichen erkannt zu haben und nach Entdeckung seines „Vibrion butyrique“, welcher sich als exquisiter Anaërobier erwies, hielt man bis zu dem von Hueppe erfolgten Widerspruch daran fest, daß die Buttersäuregärung anaërober Natur sei. Auch bei der Züchtung der Anaërobier wurden durch Kochs Reinzuchtverfahren bessere und einfachere Methoden gefunden, welche eine große Zahl von Anaëroben und Buttersäurebakterien zu Tage förderten. Auch hier und bei den im nächsten Paragraphen folgenden Angaben über die neuen Buttersäurebakterien, einschließlich der Arbeiten von Graßberger und Schattenfroh, muß auf Einzelstudium verwiesen werden, desgleichen bei den §§ 33 und 34 über die aëroben Buttersäurebakterien und die chemischen Vorgänge bei der Buttersäuregärung.

Die Alkoholgärung in der Milch bildet das 8. Kapitel und werden zunächst die die Vergärung des Milchzuckers bewirkenden Organismen besprochen.

Der Milchzucker unterliegt meist nicht so leicht einer alkoholischen Gärung, weil gewöhnlich die Säurebildner, in größerer Menge vorhanden, die wenigen alkoholisch vergärenden Organismen überwuchern; wird aber durch kohlen sauren Kalk die gebildete Säure immer rechtzeitig abgestumpft, dann ist die Alkoholbildung leicht festzustellen und quantitativ zu bestimmen. Zu den Alkoholbildnern sind in diesem Falle sowohl echte Saccharomyceten als einige unter dem Namen *Torula* (s. Bd. IV. p. 22) zusammengefaßte Sproßpilze, ferner einige Bakterienarten zu rechnen. Nach Stoklasa soll ein in der Milch selbst vorhandenes Enzym vergärend wirken können. Grotenfeld, v. Freudenreich und Jensen waren mit Erfolg auf diesem Gebiete tätig und isolierten mehrere alkoholbildende Saccharomyceten, auch der von Jörgensen aus Kefir isolierte und rasch Sporen bildende *Saccharomyc. fragilis* muß hier angeführt werden (s. Abb. p. 125). In den meisten Fällen aber wird die Alkoholbildung durch *Torula*arten (Bd. IV. Kap. 13) bewirkt und beschrieb Duclaux die erste dieser Arten, indem er diesen Pilz in einer eigentümlich riechenden Milch ermittelte, denen dann eine Anzahl durch andere Forscher isolierter Arten folgte. Auch einige Schizomyceten sind als Alkoholbildner erkannt worden und verdient vor allen Dingen der durch Frankland gefundene *Bacillus ethaceticus* Erwähnung, welchem mehrere aromatischen Geruch bildende sich zugesellen.

Hieran schließen sich die Paragraphen über Kefir und Kumys, ferner über das dem ersteren ähnliche Milchgetränk von Westasien, dem Mazun und schließlich das neueste derartige Produkt, der Milch- resp. Molkenchampagner, welcher unter dem Namen Adsellia (umgekehrt = Alles da) bekannt geworden ist. (Bereits besprochen C. f. B. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 671 durch den Referenten.)

Nun folgt im 9. Kapitel „der Abbau des Kaseins“. Aus den Angaben über Verbreitung, Gewinnung und Prüfung des Labes sei hervorgehoben, daß es als das Gerinnungsenzym der Milch anzusehen und zwar als ein proteolytisches Enzym zu bezeichnen ist. Das Lab hat eine große Verbreitung, da die Verdauungsfermente im Tier- und Pflanzenreich ständig von Labfermenten begleitet zu sein scheinen und es kaum weniger in einem als im anderen auftritt. Eine geschichtliche Darstellung der Kenntnis des Labes vom Altertum bis zur Neuzeit haben Peters und

Green geliefert. Ueber die heutigen Darstellungen von Lab und Angaben über Koagulierungsvermögen, ferner den Chemismus der Labwirkung und Abhängigkeit derselben von äußeren Bedingungen, sowie das Antilab handeln die Seiten 140—148.

Den Kapitelschluß bilden die Paragraphen über die Galaktase und Kasease. Es ergibt sich hieraus, daß bereits 1884 Meißner und Schär die Möglichkeit des Vorhandenseins eines proteolytischen Milchenzyms annahmen und Babcock und Russell glaubten 1897 Beweise für die Existenz eines solchen, der Galaktase, erbracht zu haben, allein diese und auch spätere Arbeiten haben keine positiv unanfechtbare Begründung gefunden, so daß sich heute noch die Frage aufdrängt, ob es sich nicht um ein Produkt von Bakterien handelt, die bereits im Euter vorhanden sind. Namentlich ist es ein verflüssigender Coccus, der fast stets in aseptisch gewonnener Milch vorkommt und wahrscheinlich diese Wirkung hervorruft, so daß die neuesten Arbeiten von van Slyke, Harding und Hart die Existenz von Galaktase sehr in Zweifel stellen. Jedenfalls hat die Galaktase mehr den Charakter eines tryptischen als den eines peptonisierenden Enzyms und liegt ihr Optimum zwischen 37 und 42° C; bei 10 Minuten Erhitzung über 76° wird sie zerstört.

Duclaux hat sich zuerst mit der Erscheinung der Auflösung des Kaseins in der Milch beschäftigt und benannte das die Lösung bewirkende Enzym die Kasease, das gelöste Kasein aber Kaseon, doch hat diese Bezeichnung nur vorläufigen Wert, solange die Natur des proteolytischen Enzyms noch nicht abschließend erfolgt ist.

Ueber das 10. Kapitel „Käsereifung“ kann erst nach Eingang der die Fortsetzung bringenden Lieferung berichtet werden.

Rullmann (München).

Laxa, Ueber die Einwirkung der Milchsäure auf Kasein und Parakasein. (Milchwirtschaftliches Centralblatt. 1905. Heft 12.)

Bevor Verf. sich seinen eigenen Untersuchungen zuwendet, bespricht er die bezüglich der Einwirkung von Säuren auf das Kasein der Milch vorhandene Literatur, sowie die Arbeiten, welche das Verhältnis des Kaseins zu den Mineralsubstanzen der Milch behandeln.

Als Ergebnisse seiner Untersuchungen führt Verf. unter anderem an, daß

- 1) das Kasein sich mit Milchsäure zu Laktaten verbindet;
- 2) die Laktate, welche Milchsäure bis zu 1 Proz. enthalten, in Wasser unlöslich sind. Laktate mit höherem Milchsäuregehalt sind wasserlöslich. Die Bezeichnung des unlöslichen Laktats als Monolaktat und des löslichen als Dilaktat nach Slyke und Hart ist unzutreffend;
- 3) die Laktate des Kaseins einen geringen Phosphorgehalt haben, 0,45—0,48 Proz., und durch Trocknen denaturiert werden. Auf Grund der Bildung von Laktaten und ihrer Eigenschaft, daß sie sich durch Mineralsalze aus der Molke aussalzen lassen, findet die spontane Gerinnung der Milch ihre Erklärung. Die durch Mikroorganismen der milchsäuren Gärung entstandene Milchsäure verändert die Phosphate der Milch in saure Salze, verbindet sich aber gleichzeitig mit dem in der Milch verteilten Kasein. Es bildet sich lösliches und unlösliches Laktat. Ist das Kasein dermaßen in lösliches Laktat übergeführt, daß die Mineralsalze es aussalzen können, so tritt die Gerinnung der Milch ein;
- 4) die bei der Milchsäuerung der Käsemasse beobachtete und in der Käseerei — Verf. führt italienische und andere Käsebereitungsarten an —

ausgenutzte hohe Plastizität des Kaseins ihren Grund in der Imprägnation des Kaseins mit milchsaurem Kalk hat;

5) Parakasein wahrscheinlich eine Verbindung des Kaseins mit den Kalkphosphaten ist. Bei Einwirkung von Säuren verändert es sich zu Kasein und gibt dieselben Laktate wie dieses. (Ob für die mannigfaltigen Schlußfolgerungen des Verf., so unter anderem auch bezüglich der spontanen Gerinnung der Milch, genügende Beweise in der Abhandlung sich finden, sowie ob seine Laktate als wohl charakterisierte chemische Verbindungen bezeichnet werden können, sei dahingestellt. Parallelbestimmungen sind nicht verwendet. Von Einzelheiten sei erwähnt, daß der indirekte Beweis des Verf. für das Vorhandensein unlöslicher Kaseinlaktate nicht ganz einwandfrei sein mag, da die im Filtrat festgestellte Verminderung der Azidität auch durch Adsorption von Milchsäure durch das sehr voluminöse Kasein erklärt werden kann. Weiter berechnet z. B. Verf. das vorhandene Kasein aus dem festgestellten Stickstoffgehalt durch Multiplikation mit dem Faktor 6,37. Da er später als Stickstoffgehalt des benutzten Kaseins 15 Proz. anführt, erhellt hieraus schon, daß durch Benutzung der oben erwähnten Umrechnung schwerlich genaue Werte erhalten werden können.)

Ehrenberg (Breslau).

Blumenthal und Wolff, Beitrag zur Milchgärung. (Charité-Annalen. Jahrg. XXIX. 1905. p. 12.)

Es ist eine bekannte Tatsache, daß bei Zimmer- oder Bruttemperatur stehen gelassene Milch eine sichtbare Eiweißzersetzung nicht erkennen läßt oder richtiger keine eigentliche Eiweißfäulnis. Es wird zwar in solchem Falle durch die in der Milch vorhandenen Bakterien Eiweiß in Pepton übergeführt, aber nur in verhältnismäßig geringem Umfange. Es wäre daher die Frage zu lösen, warum die Bakterienzersetzung der Milch nicht in ähnlicher Weise verläuft, wie die anderer Eiweißlösungen, z. B. des Fleisches, bei der charakteristische Fäulnisprodukte, Indol, Phenol, Schwefelwasserstoff und Merkaptan auftreten.

Als Grund für das erwähnte Verhalten der Milch wurde das Vorhandensein von Milchzucker angegeben, welcher sich bei der Gärung zersetzen und durch die gebildete Milchsäure die eigentliche Fäulnis verhindern soll. Allein in ca. 8 Jahre lang bei Zimmertemperatur aufbewahrter Milch fanden die Verf. noch 50 Proz. Milchzucker. Es war also das säurebildende Material noch nicht erschöpft, und es konnte deshalb die genannte Theorie nicht zu Recht bestehen. Die weiteren Untersuchungen der Autoren führten nun zu einer anderen Ansicht über die bei der Milchgärung ablaufenden Vorgänge, welche in folgenden Schlußsätzen niedergelegt ist:

1) Jahrelang aufbewahrte Milch kann noch ca. 50 Proz. des ursprünglich in ihr vorhanden gewesenen Milchzuckers enthalten.

2) Alkalisierete Milch enthält schon nach 8 Wochen keinen Milchzucker mehr.

3) Die spontane saure Gärung der Milch verläuft, ohne daß eine wesentliche Peptonisierung der Eiweißkörper nachzuweisen ist, unter Bildung von großen Mengen Aminosäuren, insbesondere Leuzin. Von den Körpern der aromatischen Reihe ist nur Tryptophan nachweisbar. Die Menge der Aminosäure steigt ebenfalls, sobald die Milch alkalisiert wird.

4) Sowohl die flüssigen Fettsäuren als auch die eigentlichen Säuren

der Milch, die Milchsäure und Bernsteinsäure, sind bei langandauernder Fäulnis vermehrt. Die Vermehrung der Milchsäure ist aber eine weit größere als die der Bernsteinsäure. Carl (Karlsruhe).

Barthel, Chr., Bidrag till kännedom om mjölksyrebakteriernas förekomst och utbredning utom mjölken. [Beiträge zur Kenntnis des Vorkommens und der Verbreitung der Milchsäurebakterien außerhalb der Milch.] (Meddelande från Hamra laboratorium. Nr. XVI.)

Verf. stellt folgende Fragen zur Beantwortung auf: „Wie und auf welche Wege gelangen die Milchsäurebakterien in die Milch? Wo finden sich diese Bakterien außerhalb des Kuhstalls und der Molkerei, und finden sie sich auch an solchen Orten, wo Milch und Vieh nicht vorkommen?“ Verf. geht von dem Gedanken aus, daß die negativen Resultate einer Anzahl der früheren Versuche über den Fundort der Milchsäurebakterien in den Untersuchungsmethoden liegt. Man hat sich nur des direkten Plattengießens bedient. Verf. wendet in dieser Arbeit eine Anreicherungsmethode an, was ja angezeigt ist, da man nur ein Konstatieren des Vorhandenseins des Bakteriums, nicht eine quantitative Bestimmung beabsichtigt. Das zu untersuchende Material kommt unter aseptischen Kautelen in sterile Milch, die bei 20 und 37° aufbewahrt wird. Die Luft wurde durch die Milch gesaugt. Nach Koagulierung oder sonstiger Veränderung der Milch wurde davon eine Oese in sterile Milch geimpft, die bei denselben Temperaturen aufbewahrt wurde. Von dieser Milch wurden Platten mit geeignetem Nährboden gegossen.

Das Untersuchungsmaterial ist sehr umfassend. Viele Arten Gras und Kräuter, Heu und Stroh, verschiedene Kraftfuttermittel, Luft, Wasser, Torfstreu, Fliegen, frische Exkremente, gebrannter Dünger und Erde verschiedener Provenienz wurden untersucht.

Besonders interessant ist der Vergleich der Resultate der Proben von verschiedenen Pflanzen und von Erde aus der Tiefe des Waldes und von bewohnten Orten.

Die aus den Untersuchungen gemachten Schlußfolgerungen werden zusammengefaßt, wie folgt:

1) *Bact. lactis acidi* kommt in kultivierten Orten im allgemeinen auf allen Arten von Pflanzen und Getreide vor. Auf Pflanzen, die weit von kultivierten Orten wachsen, ist diese Bakterienart dagegen selten, und wenn sie einmal angetroffen wird, so befindet sie sich in einem Zustande schwacher Virulenz.

2) Dasselbe gilt vom Vorkommen des *Bact. lactis acidi* in der Erde.

3) *Bact. coli commune* und *Bact. lactis aërogenes* (wenigstens der erstere) finden sich sowohl auf allen kultivierten Pflanzen, wie auf solchen, die an nichtkultivierten Orten wachsen. Dasselbe gilt von dem Vorkommen dieser Bakterien in der Erde. Dieser allgemeinen Verbreitung von *Bact. coli commune* in der Natur zufolge kann es bezweifelt werden, ob es richtig ist, wie es die Wasserbakteriologen tun, das Vorkommen dieses Bakteriums in Wasser als Zeichen einer Infektion durch Fäkalien anzusehen.

4) Im Kuhstall kommt *Bact. lactis acidi* beinahe überall vor, auf Grünfutter, Heu, Stroh, Futterkuchen, Kleie, geschrotetem Hafer, in der Luft, im Wasser, in der Streu, in den Exkrementen der Fliegen.

Es ist also ganz natürlich, daß die Milch gleich nach dem Melken mit Milchsäurebakterien infiziert wird.

5) *Bact. lactis acidi* kommt nicht nur in frischen Exkrementen, sondern auch in gelagertem zusammengebranntem Dünger mit unveränderter Virulenz vor. Mit diesem kommt es wieder auf den Acker und die Pflanzen und setzt in dieser Weise seinen Kreislauf fort.

6) Um so weit wie möglich die Infektion der Milch durch Milchsäure-, Coli- und Aërogenes-Bakterien zu verhindern, gibt es kein anderes Mittel, als die strengste Reinlichkeit, sowohl im allgemeinen, im Kuhstall, wie besonders beim Melken.

Gerda Troili-Petersson (Stockholm).

Lussana, Filippo, Sulla viscosità del latte. (Bullet. delle scienze mediche. 1905. Fasc. 12.)

Verf. kommt zu folgendem Ergebnis:

Die Milch verhält sich bei Zusatz von Zucker (Glukose, Laktose) wie das Blutserum und bei Zusatz von NaCl und NaOH wie die gummöse Lösung. Oft bilden sich auch in der ganz frischen Milch nach Zusatz letztgenannter Substanzen kleine Gerinnsel, die beim Ausgießen der Flüssigkeit am Glase anhaften. Ebenso genügt der Beisatz weniger Tropfen Soda lösung zur Erzeugung einer Trübung. Daß diese feinsten Niederschläge (die jedoch zuweilen auch ganz umfassend sind) auf die Zeit des Ausflusses einen Einfluß haben, davon überzeugt man sich leicht, wenn man beobachtet, daß sowohl bei den früheren Versuchen wie auch bei den nachfolgenden das einfache Umrühren der Flüssigkeit mit einigen Luftblasen die Ausflußzeit vermehrt und zuweilen auch vermindert.

Bertarelli (Turin).

Henneberg, W., Bakteriologische Untersuchungen in der Schnelllessigfabrik, sowie Anreicherungs- und Säuerungsversuche mit Schnelllessigbakterien. (Die deutsche Essigindustrie. 1905. No. 49—51.)

Es werden zunächst die Ergebnisse einiger gelegentlich ausgeführter biologischer Analysen von Gärungsessigen und von Holzspänen aus den Essigbildnern mitgeteilt. Die Untersuchungen fanden in den meisten Fällen an Material aus den Schnelllessigbildnern der Versuchsessigfabrik im Institut für Gärungsgewerbe statt.

Eine Essigprobe aus einem gut arbeitenden Bildner (12,5 Proz. Essigsäure), die völlig klar erschien, wies in einem kleinen Tröpfchen (Platinöse) etwa 10—20 Bakterienzellen auf. Bei der nach einiger Zeit wiederholten mikroskopischen Untersuchung waren keine Bakterien im Abflußessig nachzuweisen. Letzteres war auch in einigen anderen Proben der Fall. Einige aus „kranken“ Bildnern (eingesandte Proben) dagegen zeichneten sich durch große Mengen von Bakterien aus, so daß dadurch auch die Trübung solcher Essige öfter zu erklären war.

Bei der Untersuchung der Buchenholzspäne von der Oberfläche und der Tiefe aus 5 Bildnern und ebenso bei der Untersuchung der äußeren und inneren Seite der aufgerollten Späne konnte kein bemerkenswerter Unterschied in der Bakterienflora aufgefunden werden. Die Schnelllessigbakterien sind klein und von länglicher Form, ihre Länge und Breite schwankt ziemlich bedeutend. Es sind einzelne oder zu 2 und 3 in geraden, geknickten oder rundlich gebogenen Linien verbundene Zellen. Bisweilen fanden sich auch nierenförmige und komma-

förmige Zellen und ebenso sehr stark gebogene Zellen vor, die offenbar Abschnitte aus großen Spiralen darstellten. In allen Fällen waren sehr große Mengen von Bakterien zu beobachten, wenn kleine Teile der Späne mit dem Messer abgeschabt und die so gewonnenen feinen Holzteilchen in wenig Wasser verrührt wurden.

Um die natürliche Anordnung der Bakterien auf den Holzspänen zu erfahren, wurden möglichst dünne Schnitte von letzteren hergestellt. Die an der hellbräunlichen Farbe schon bei geringer Vergrößerung leicht erkennbaren Bakterienansammlungen bedecken mantelförmig oft ausgedehnte Strecken der äußeren Wände der Holzfasern und Holzgefäße oder kleiden die inneren Wände der letzteren tapetenartig aus. Oftmals wurden Holzgefäße, die fast gänzlich geschlossen waren, mit Bakterien völlig angefüllt vorgefunden. Hier und in den rinnenförmigen Vertiefungen, die durch Zerreißen des Holzes beim Herstellen der Späne entstanden sind, haben die Bacillen ihren sicheren Versteck, so daß sie durch das über die Späne herabfließende Essiggut nicht heruntergeschwemmt werden können. Die meist dicht aneinander gelagerten Bakterienzellen werden offenbar durch geringe Schleimmassen zusammengehalten, da sie vielfach ihren Zusammenhang auch nach der Ablösung vom Holz bewahren. Eine größere Schleimmasse wird aber jedenfalls von ihnen nicht gebildet, denn mit bloßem Auge oder durch Reiben zwischen den Fingern ist von der Anwesenheit der Bakterienmassen an den Spänen eines normal arbeitenden Bildners nicht das geringste zu bemerken. Aus letzterem Umstand hat man früher vielfach den Schluß gezogen, daß nur unverhältnismäßig wenig Bakterien auf den Spänen vorhanden seien. Liebig z. B. konnte die Schnellessigbakterien nicht finden und hielt daher die Essigbildung in den Schnellessigbildnern für einen rein chemischen Vorgang.

Wie fest die Bakterien an den Spänen sitzen, ließ sich in folgender Weise zeigen. Es wurden einige Späne eine Minute lang mit Wasser kräftig geschüttelt und das Spülwasser durch frisches ersetzt. Als dies 5mal hintereinander stattgefunden hatte, fanden sich in dem letzten Spülwasser, sowie an den Spänen selbst, noch immer große Mengen von Bakterien vor. Aus dem Zellinnern können sie natürlich auch durch diese Behandlung nicht herausgespült werden. Ein wie sicheres Versteck die Bakterien öfter innehaben, ging auch aus folgender Beobachtung hervor. In einem im Ablaufessig gefundenen Bein einer Essigmilbe waren die inneren Wände der hohlen Glieder völlig mit Bakterien austapeziert.

In ungehopftem Würzeagar in Petrischalen ergab eine Essigprobe aus einem normal arbeitenden Bildner Kolonien von Kahlmehfen, Fruchtätherhefen und Bakterien.

Später, bei wiederholter Untersuchung, fanden sich Heubacillen, Kugelbakterien und Schleimessigbakterien in größerer Menge vor. Ein trüber Essig aus einem kranken Bildner enthielt Infusorien, *Dematium*, Kahlmehfen, drei Arten von Essigbakterien (*B. xylinum*, eine bewegliche Art und eine schleimige Kolonien bildende Art) und schließlich eine Art mit gasbildenden Kolonien. Eine andere Essigprobe, die ebenfalls aus einem kranken Bildner (nur 2,2 Proz. Säure!) stammte, wies zwei Arten Bakterien auf. Die eine Art dürfte wohl sicher das früher vom Verf. beschriebene Essigbakterium *B. ascendens* gewesen sein.

Besonders hervorzuheben ist, daß die eigentlichen Schnell-essigbakterien nicht ohne weiteres durch die Petri-Schalenkultur zu gewinnen waren, wenn dazu das Material unmittelbar aus dem Bildner oder aus dem Essig genommen wurde. Es waren daher zunächst Anreicherungsversuche vorzunehmen.

Als Ausgangsmaterial zu diesen Versuchen diente entweder der Ablaufessig oder die dem Bildner entnommenen Buchenholzspäne.

Bei längere Zeit in Flaschen mit Watteverschluß aufbewahrten Essigproben bilden sich nach 1—4 Monaten in den meisten Fällen auf der Oberfläche eine große Menge kleiner weißer Inseln, die aus Essigbakterien bestehen. In manchen Fällen entstanden auch an der Flüssigkeitsgrenze an der Glaswand zarte Bakterienringe. Die Essige von 8 Bildnern der Versuchsessigfabrik ließen allmählich Schleimmassen des *B. xylinum* aufkommen. Vielfach bedeckte dieses Essigbakterium zuerst wie ein Amöbenplasmodium netzartig den Boden des Gefäßes. Von hier gingen dann zarte Schleimfäden in die Flüssigkeit hinein, welche die Flüssigkeitsoberfläche zu erreichen suchten. Oben angelangt, entstanden schließlich die charakteristischen gallertigen Schleimmassen (z. B. nach $3\frac{1}{2}$ Monaten). Trotz des großen Essigsäuregehaltes von 11—13,2 Proz. können also die Essigbakterien sich noch vermehren, was allerdings erst nach längerer Zeit eintritt.

Bisweilen bleibt aber auch jede bemerkbare Entwicklung in den aufgestellten Essigproben aus, ohne daß man hierfür einen Grund auffindig machen könnte. Wahrscheinlich fanden sich in diesen Fällen keine unter diesen Bedingungen entwickelungsfähigen Bakterien in dem Ablaufessig vor.

Wie auf dieselbe Weise festgestellt wurde, enthielt auch das Essigut (7,1 Proz. Alkohol und 5,2 Proz. Essigsäure), das in die verschiedenen Bildner gegossen wurde, entwickelungsfähige Schnellessigbakterien. Ein Pasteurisieren der „Essigmaische“ für Reinzuchtbildner ist also durchaus nötig.

Die Anreicherung der Schnellessigbakterien in dem Ablaufessig gelang viel schneller, wenn eine geringe Menge desselben in stark verdünnte und mit Bierwürze versetzte Essigmaische gebracht wurde. In einem Versuche hatte sich z. B. schon nach 10 Tagen eine zarte Haut von Schnellessigbakterien auf der Flüssigkeit eingefunden. Oft stören in den so angestellten Versuchen die Essigälchen in hohem Grade, da diese sich in den säurearmen Flüssigkeiten stark vermehren und durch ihre beständigen Bewegungen die Hautbildungen der Essigbakterien verhindern können.

Am sichersten erfolgreich sind die Anreicherungsversuche, wenn Buchenholzspäne aus den Bildnern als Ausgangsmaterial dienen. Man kann zu diesem Zweck entweder die Späne selbst oder Essig, in dem einige Späne kräftig geschüttelt wurden oder schließlich die von den Spänen mit dem Messer abgeschabten Flüssigkeitstropfen benutzen. Die Aussaat besteht dann im Gegensatz zu den zuerst angegebenen Versuchen in unzähligen lebenskräftigen Bakterien. Als Nährflüssigkeit wird am besten nicht der starksaure Essig, sondern dünner Essig mit verdünnter Bierwürze, Bier oder Kornmaische, oder verdünnte Essigmaische u. s. w. zur Anwendung gebracht.

Schon nach 5—10 Tagen bilden in solchen Versuchen die Essigbakterien auf der Flüssigkeitsoberfläche zarte Häute.

Recht interessant sind die verschiedenen Befunde bei den ein-

z elnen Bildnern. So bildete sich in den Versuchsgefäßen entweder ein zarter Bakterienring oder eine zarte Haut oder schließlich eine dickschleimige Haut des *B. xylinum* oder einer verwandten Art. Die Art der Hautbildung und der Ringbildung, sowie der Grad der Trübung der Flüssigkeit können wiederum sehr verschieden sein. Erwähnenswert ist, daß in manchen Fällen eine interessante „Niveaubildung“ durch die Bakterien zu erkennen war. Es hatten sich an der Gefäßwand unzählige kleine, rundliche, bräunlich gefärbte Kolonien gebildet, die in der Höhe der Flüssigkeitsoberfläche und 2 mm darunter etwa $\frac{1}{4}$ mm im Durchmesser maßen. Je tiefer, desto mehr nahm ihre Größe ab, bis in einer Tiefe von 7 mm unter der Flüssigkeitsoberfläche, offenbar infolge der fehlenden nötigen Sauerstoffmenge, die Kolonien gänzlich fehlten.

Bei Versuchen, die den Einfluß verschiedener Nährflüssigkeiten, wie Bier, Würze mit 4 Proz. Alkohol und Essigmaische mit Getreidemaischezusatz, zeigen sollten, ergab sich kein besonderer Unterschied. Würze erwies sich in manchen Fällen günstiger als Bier. Getreidemaische ließ besonders schnell und üppig das *B. xylinum* aufkommen. Letztere Art war in 7 von 8 Essigbildnern bisher nachzuweisen und dürfte bei genaueren Untersuchungen wohl ebenso wie der Essigal in keiner einzigen Essigfabrik fehlen. Daß diese Art, wenn sie sich in mäßiger Menge nur vorfindet, nicht schädlich ist, konnte in der Versuchsessigfabrik festgestellt werden, da sämtliche Bildner gut arbeiteten. Bei dem Vorhandensein von größeren Mengen dieses Bakterium können aber Verstopfungen in den Bildnern eintreten.

Würze von 4°, 6° und 12° Bllg. erwiesen sich als gleich günstig, dagegen war in Würze, die unter 4° Bllg. mit Wasser verdünnt war, das Wachstum der Essigbakterien viel geringer.

Eine zu $\frac{2}{3}$ mit Wasser verdünnte Essigmaische ließ am schnellsten, die zur Hälfte verdünnte etwas später und die unverdünnte (5,6 Proz. Säure) Essigmaische am spätesten (13 Tage) eine Bakterienentwicklung aufkommen.

Würze und Wasser erwiesen sich als Verdünnungsmittel ziemlich gleich.

Die Ursache des späten Wachstums der Bakterien in der unverdünnten Essigmaische ist natürlich der hohe Säuregehalt. Man muß in der Praxis aber das Essiggut ansäuern, um die nicht gewünschten Bakterien, Kahlhefen und Schimmelpilze am Wachstum zu hindern. In einigen Versuchen wurde der Einfluß des verschiedenen Säuregehaltes auf diese Organismen festzustellen gesucht.

In einer Malz-Roggenmaische von 12° Bllg. mit Zusatz von 5 Proz. Alkohol, der verschiedene Mengen Essigsäure zugesetzt wurden, wuchsen bei fehlender Ansäuerung und bei 0,5 Proz. Essigsäure die Bakterien des Spülwassers von Essigspänen bereits am 5. Tage, bei 1 und 2 Proz. am 12. Tage und schließlich bei 4 Proz. erst am 25. Tage. In der Maische mit 5 Proz. Säure trat überhaupt keine Entwicklung ein. Eine Kahlhefeentwicklung fand sich nur bei 0 und 0,25 Proz. Essigsäure.

Bei Aussaat eines Essigs, der ein Gemisch von Kahlhefe und Essigbakterien enthielt, wuchsen bei 0—0,3 Proz. Essigsäure nur Kahlhefen, bei 0,5 Proz. beide Organismen nebeneinander, und bei 0,75—2 Proz. nur Essigbakterien (bis zum 3. Tage). Die Temperatur war 30° C. Als mit einer anderen Kahlhefeart bei 25° der Versuch

wiederholt wurde, entwickelten sich bei 0—1,25 Proz. Essigsäure nur Kahlmhefen und bei stärkerem Säuregehalt nur Essigbakterien. Am 11. Tag war bis 2,75 Proz. Säure eine Essigbakterienhaut zu beobachten, während bei 3 Proz. in der ganzen Versuchsdauer keine Entwicklung auftrat. Unter gleichen bestimmten Bedingungen gewann bei 30° das Essigbakterium und bei 20° die Kahlmhefe die Vorherrschaft.

Die Brennereihefe Rasse II vermochte bei 0—0,5 Proz. innerhalb 24 Stunden, bei 0,7 Proz. erst am 3. Tage und bei 0,9 Proz. Essigsäure und darüber sich überhaupt nicht mehr zu entwickeln.

Der Pinselschimmel (*Penicillium glaucum*) zeigte nur bei 0—0,2 Proz. Essigsäure Wachstum.

Nach dem Gesagten würde also eine Ansäuerung mit 1,75—2 Proz. Essigsäure völlig genügen, um Kahlmhefen u. s. w. in den Essigmaischen auszuschließen. Für die Weinessigfabrikation nach dem Orleansverfahren ist dies von großer Bedeutung. Gewöhnlich säuert man hier zu stark an, so daß eine große Verzögerung in der Essigbildung eintritt.

Die Versuche, welche die günstigste Temperatur für Anreicherung der Schnellessigbakterien ausfindig machen sollten, ergaben, daß bei 40° kein Wachstum stattfindet, daß bei 38° das *B. xylinum* und daß bei 26—30° die Schnellessigbakterien sich am besten entwickelten. Bei 23° trat erst nach 14 Tagen eine Bakterienentwicklung ein. Vielfach störten bei diesen Versuchen die Essigälchen. Diese starben bei 38° ab, bei 33° blieben sie am Leben und erst bei 30° und darunter vermehrten sie sich sehr stark.

Die durch Züchtung in besonders geeigneten Nährflüssigkeiten erhaltenen Schnellessigbakterien lassen sich im Gegensatz zu den abgeschwächten, im Essig befindlichen Bakterien, leicht durch die Petri-Schalenkultur in Reinzucht gewinnen.

Erwähnenswert ist, daß ein gut arbeitender Essigbildner wohl nicht, jedenfalls nicht leicht durch fremde Essigbakterienarten infiziert werden kann. Die in die Fabrikbildner monatelang eingebrachten Essigbakterienarten *B. ascendens* und *B. acetigenum* konnten bisher niemals in den Bildnern in entwickelungsfähigem Zustand nachgewiesen werden.

Um zu untersuchen, ob die Schnellessigbakterien auch in ruhig stehenden Flüssigkeiten im Laboratorium so kräftig wie in den Schnellessigbildnern zu säuern vermögen, wurden einige Versuchsreihen angestellt. Es wurden bisher 10—11 Proz. Essigsäure bei Anwendung von Essigmaische mit einem ganz geringen Zusatz von Getreidemaische erzielt. Die Hautbildung war nur sehr gering.

In einigen Versuchen wurden in die Essigmaische einige dem Bildner entnommene Späne in der Weise eingelegt, daß sie in einem Gefäß völlig untergetaucht waren und in einem anderen zur Hälfte aus der Flüssigkeit herausragten. Nur letztere säuerten und zwar in dem Kulturgefäß am meisten, dem eine geringe Menge Getreidemaische zugesetzt war (bis 11,2 Proz. Essigsäure). Die untergetauchten Späne säuerten auch dann nicht, als später nach Entfernung eines Teiles der Flüssigkeit dieselben nur zur Hälfte von der Flüssigkeit bedeckt waren. Offenbar waren in diesem Versuch die Bakterien inzwischen abgestorben.

Die Versuche wurden schließlich noch in der Weise umgeändert, daß ein starker Luftstrom beständig durch die Flüssigkeit hindurchgeleitet wurde. Wie vorausszusehen, wurde die Säurebildung dadurch

angeregt. Der Säuregehalt stieg in 14 Tagen von 6,5 bis auf 8,9 Proz., während die ungelüftete Kontrollprobe nur 7 Proz. zu dieser Zeit aufwies.

Autoreferat.

Malenkovitsch, Einige Daten über die Vergärbarkeit des Xylans. (Naturwissenschaftliche Zeitschr. f. Land- und Forstwirtschaft. 1905. Heft 12.)

Verf. führt Untersuchungen mit anaëroben Bakterien, mit anaëroben denitrifizierenden Bakterien (Infektion durch Dünger) und Schimmelpilzen (Luftinfektion) aus. Er faßt die Ergebnisse dahin zusammen, daß Xylan ähnlichen Zersetzungen wie Zellulose unterworfen ist, nur viel rascher und leichter zersetzt wird. Einer Vergärung durch echte Hefen scheint Xylan (Xylose) nicht zugänglich zu sein.

(Die in sehr großer Kürze mitgeteilten Versuche und ihre Ergebnisse dürften schwerlich zum Beweise der Folgerungen des Verf. ausreichen.)
Ehrenberg (Breslau).

Mitscherlich, Eilh. A., Bodenkunde für Land- und Forstwirte. II u. 364 pp. Berlin (Parey) 1905.

Das vorliegende Buch ist nicht nur für die Agrikulturchemie, sondern auch für die Pflanzenphysiologie von Bedeutung. Der Standpunkt, den der Verf. zu Grunde legt, geht aus folgenden seiner allgemeinen Bemerkungen hervor. Indem die Pflanzenphysiologie die physikalischen und chemischen Bedingungen, unter denen die Pflanzen wachsen, untersucht, betrachtet sie von diesem Gesichtspunkte die chemische und physikalische Beschaffenheit des Bodens. Man hat bislang fast stets die pflanzenphysiologische Bodenkunde in direkte Abhängigkeit zur geologischen zu bringen gesucht. Das Gedeihen der Pflanzen wird sich jedoch stets danach richten müssen, wie der Boden momentan chemisch und physikalisch beschaffen ist. Indem man die Grundlagen jeder pflanzenphysiologischen Bodenkunde vernachlässigte, kam diese Wissenschaft in ein Stadium, in dem eine Weiterentwicklung nicht mehr möglich war. Dies erkannten auch solche Forscher an, welche den geologischen Aufbau des Bodens als fast allein maßgebend für den pflanzenphysiologischen Wert desselben ansahen. Diese Auffassung bringt es mit sich, daß der Pflanzenphysiologe und Biologe aus dem Buche über eine Menge von Dingen Auskunft erhält, deren Behandlung er vergebens suchen würde in den landläufigen Handbüchern der Agrikulturchemie, die ihm seinen Bedarf an bodenkundlichem Material liefern. Wie häufig tritt an ihn die Frage heran, wie es sich mit der Durchlässigkeit des Bodens für Gase und Wasser verhält, wie groß die spezifische Wärme eines Bodens, und wie die Kapillarität im Boden beschaffen sei, um nur diese für das Pflanzenwachstum wichtigen Erscheinungen unabhängig von aller Theorie hier zu nennen. Das Buch unterscheidet sich von ähnlichen durch die eingehende Behandlung der physikalischen Zustände des Bodens, mit denen die Physiker vom Fach bisher sich leider nur wenig beschäftigten. Hierzu erscheint der Verf. besonders berufen, da er zum Teil gemeinsam mit Rodewald eine Reihe von Spezialstudien über die Physik des Bodens ausführte (vergl. Landw. Jahrb. 1901—1903, Landw. Versuchsstat. 1903—1904, Journ. f. Landw. 1898, 1900). Der Verf. verweist auch auf Resultate von Arbeiten, die noch nicht anderswo zur Veröffentlichung gelangten, so z. B. über solche, welche das Verhalten des Bodens resp. seiner einzelnen Bestandteile zum Wasser betreffen.

A. Maurizio (Zürich).

Thiele, B., Die Verarbeitung des atmosphärischen Stickstoffs durch Mikroorganismen. [Aus der Abteilung für Bodenforschung des Instituts für landwirtschaftl. Pflanzenproduktionslehre der Universität Breslau.] (Landwirtschaftl. Versuchsstationen. Bd. LXIII. 1905. p. 161—238.)

Die Grenzen der vorliegenden Untersuchungen sind beträchtlich enger gezogen, als die Ueberschrift besagt. Verf. ist nämlich der Meinung, daß die von verschiedenen Seiten vertretene Ansicht, daß durch frei im Boden lebende Mikroorganismen elementarer Stickstoff assimiliert werde, eng mit der Entdeckung des *Azotobacter chroococcum* verknüpft sei, während sie tatsächlich von den Beobachtungen Berthelots, Winogradskys und vor allem Carons ihren Ausgang nahm. Er beschränkt sich infolgedessen ausschließlich auf Untersuchungen über die Wirksamkeit des *Azotobacter*. Die Arbeiten Carons hätten aber wohl auch deshalb Berücksichtigung verdient, weil sie im Widerspruch stehen mit der von Pfeiffer aufgestellten Hypothese, die Verf. ohne weiteres als völlig sicher erwiesene Tatsache annimmt, daß nämlich die Untersuchungen über die Tätigkeit der stickstoffbindenden Mikroorganismen im Boden „lediglich negative Befunde“ ergeben hätten.

Der I. Abschnitt schildert den Stand unserer Kenntnisse vom *Azotobacter* nach der 1901—1903 erschienenen Literatur. Beijerinck soll hierbei ein Irrtum insofern nachgewiesen werden, als er (in diesem Blatte, Bd. VII. p. 569) sagt, daß 10 mg KNO_3 pro Liter *Azotobacter* im Anhäufungsversuch nicht aufkommen lassen, dagegen weiterhin (p. 575) angibt, daß für *Azotobacter*-Reinkulturen Kalisalpeter selbst in Mengen von 0,1 Proz. günstig wirkt. Der Irrtum ist indessen nur auf Verf. Seite, denn Beijerinck sagt an der ersten Stelle ausdrücklich, daß sich die Reinkulturen deshalb anders verhalten, weil sie der Konkurrenz mit den Nitrophilen entrückt sind. Die von Gerlach und Vogel ausgeführten Impfungen von Erde mit *Azotobacter* werden „insofern schwerwiegend“ genannt, als sie negative Befunde ergaben.

An II. Stelle wird die Kultur des *Azotobacter* auf flüssigen und festen Nährsubstraten besprochen. Verf. hatte große Schwierigkeiten mit der Isolierung; namentlich ein *B. molestus* n. spec., der auf Mannitagar ähnlich wie *Azotobacter*, schlecht in Bouillon wächst, und dessen nähere Beschreibung in Aussicht gestellt wird, machte sich stets unangenehm bemerkbar. Verf. bezweifelt danach, daß es Beijerinck wirklich, wie dieser angibt, ohne größere Schwierigkeiten gelungen sein sollte, Reinkulturen von *Azotobacter* zu erhalten.

Die zur Ermittlung der Intensität der Stickstofffixierung durchgeführten Versuche wurden in 1500 ccm fassenden, mit je 1000 ccm 1,5-proz. (an einer Stelle steht statt dessen 2,5-proz.) wässriger Mannitlösung (mit 0,5 ‰ Kaliumbiphosphat) gefüllten Erlenmeyer-Kolben durchgeführt. Beimpft wurde mit je 5 ccm *Azotobacter*-Aufschwemmung. Durch die Flüssigkeit wurde in langsamem Strome von Stickstoffverbindungen befreite, sterile Luft hindurchgesaugt. In den beiden ersten Versuchsreihen wurden 25—30 mg pro Liter assimiliert. Die gegenüber den Befunden anderer Autoren relativ geringe Größe dieser Zahlen wird einerseits auf die vorherige längere Fortzucht auf festem Substrat zurückgeführt, andererseits wird dem einmal in der „Reinkultur“ noch nachgewiesenen und vielleicht auch in den übrigen Kolben anwesenden *B. molestus* eine störende Wirkung zugeschrieben, obwohl alle entsprechen-

den Kontrollversuche negativ ausfielen. In einer dritten Versuchsreihe wurde 1 Proz. Traubenzucker mit 1,5 (oder 2,5 ?) Proz. Mannit in Parallele gesetzt. Die Mannitkolben ergaben 42—53 mg, die Traubenzuckerkolben 20—25 g. Glycerin hatte sich nach Vorversuchen ganz ungünstig erwiesen. In der vierten Versuchsreihe wurde die Wirkung einer Zugabe von CaCO_3 , MgSO_4 und NaCl zu der, außerdem 0,5 ‰ Kaliumbiphosphat enthaltenden, 1-proz. Traubenzucker-, bezw. 1,5-proz. Mannitlösung geprüft. In diesem Falle waren die Ergebnisse in der Traubenzucker- bezw. Mannitlösung ungefähr die gleichen. Die verschiedenen Salze beeinflussten die Resultate im allgemeinen nicht, nur Calciumcarbonat wirkte in der Mannitlösung günstig.

Bei der Kultur auf festen Nährböden erhielt Verf., in dessen Azotobacter-Kulturen *B. molestus* „sehr häufig sein tückisches Spiel trieb“ auch eigentümliche Gebilde, die er zunächst für die von Heinze entdeckten „Sporangien“ hielt, die sich indessen als encystierte Amöben entpuppten. Desgleichen konnte er nicht so bedeutende Differenzen im Aussehen der Kulturen auf festen Nährböden konstatieren, wie Heinze angab. Er bestätigt zwar dessen Ansicht, daß sehr verschiedene Möglichkeiten modifizierend einwirken können, meint aber, „wenn wir derartige Klauseln einführen, so verschanzen wir uns hinter einen Wall von Theorien, die jeden Einwand fruchtlos erscheinen lassen.“ — Auf Fleischextraktagar zeigte nur ein Stamm ansehnliches Wachstum. Dasselbe Ergebnis resultierte auf Traubenzuckergelatine. Erdextraktagar und -gelatine, sowie Bodenextraktlösung ließen besonders schön entwickelte Zellen entstehen. Im Mannitagar wirkte Kreidezusatz günstig. Peptonwasseragar ergab Hypertrophieen. Gutes Wachstum stellte sich auch noch auf schwach citronensaurem Mannitagar ein, desgleichen auf Lupinenextraktagar, während *Vicia-Faba*-Extrakt das Fortkommen nicht ermöglichte.

Der III. Abschnitt bringt Beobachtungen über das Vorkommen des Azotobakter in verschiedenen Bodenarten und seine Kultur in sterilem Boden. Dieser Organismus fand sich auf dem Breslauer Versuchsfeld auf sämtlichen Parzellen bis 50, auch 60 cm Tiefe, dagegen in Erdproben vom Riesengebirge aus 1000—1500 m Höhe nicht oder nur in spärlicher Zahl. Für wichtiger als den Nachweis des Vorhandenseins erachtet Verf. die Konstatierung der Wirksamkeit des Azotobacter im Boden. Er fordert in mißverständlicher Auffassung der in der Regel, aber doch keineswegs immer, für die medizinische Bakteriologie gültigen Prinzipien, daß auch bei bodenbakteriologischen Untersuchungen 1) in jedem gleichartigen Falle ein bestimmter Organismus vorhanden sein, und daß dieser 2) in Reinkulturen im Boden den erwarteten Prozeß hervorrufen muß. Es macht sich hier jener oben erwähnte grundsätzliche Irrtum geltend, daß die Untersuchungen über die stickstoffbindenden Mikroorganismen gleichbedeutend mit „Azotobacterforschung“ seien. Das schon nach früheren Untersuchungen bekannte weitverbreitete Vorkommen des Azotobacter bestätigen die referierten Befunde, während jedoch die Bodenimpfversuche von Gerlach und Vogel negativ verliefen und „insofern schwerwiegend“ waren, erhielt Verf. bei Einimpfung von Azotobacter in sterilen Sand, der außer der mit der Impfaufschwemmung eingebrachten Mannitmenge keine organische Substanz enthielt — Humus sollte als „unbekannter Faktor“ nicht verwendet werden — in Uebereinstimmung mit Beobachtungen Freudenreichs in einem Falle eine sehr deutliche

Stickstoffassimilation. Innerhalb 4 Wochen wurden bei 28—30° C 12 mg Stickstoff assimiliert. „Natürlich ist aber nach diesem einen günstigen Befund noch kein endgültiges Urteil zu fällen.“ Die bei Zimmertemperatur durchgeführten Versuche verliefen sämtlich resultatlos. Auch mit sterilisiertem Boden wurden Versuche ausgeführt. Die Erde war nach 6-stündigem Aufenthalt im Autoklaven bei 120° und nachfolgendem, an 8 Tagen wiederholtem 1-stündigen Erhitzen im strömenden Dampf nicht immer steril, wie die Prüfungen auf verschiedenen festen und flüssigen Nährsubstraten erkennen ließen. Das Material wurde naturgemäß hierbei stark verändert. „Besonders der Stickstoffgehalt eines sterilisierten Bodens ist bedeutend höher als der eines unbehandelten“ (?). Die beimpften Kolben wurden bei Eisschrank-, Zimmertemperatur, sowie bei 30° aufbewahrt. Von 4 zu 4 Wochen wurden je 5 Kolben analysiert. Es ergaben sich keine außerhalb der Fehlergrenze liegende Stickstoffzunahmen. (Zahlen werden nicht mitgeteilt.) Weiter wurde nicht sterilisierter Boden (je 50 g in Kjeldahl-Kolben von 500 ccm) teils mit *Azotobacter* beimpft, teils nicht beimpft von April bis Oktober in Sandkästen eingegraben aufbewahrt. Die Kolben passierte ein von Stickstoffverbindungen befreiter Luftstrom. Auch dieser Versuch verlief resultatlos. Im Jahre 1904 wurde er wiederholt, in diesem Falle aber auch dafür gesorgt, daß die in den Versuchskolben befindliche Erde befeuchtet werden konnte, ohne daß dabei ungereinigte, äußere Luft in die Kolben gelangte. Die hierzu nötige Einrichtung wird im Original ausführlich beschrieben und durch eine Skizze veranschaulicht. Auch diese Versuche ergaben kein positives Resultat, wofür vielleicht der Stickstoffreichtum des betreffenden Bodens (0,190 Proz.), die relativ niedrige Temperatur oder der Mangel an geeigneter kohlenstoffhaltiger Substanz verantwortlich zu machen ist. Im Jahre 1905 sollten diese Versuche mit größeren Mengen stickstoffreicher Erde vom Versuchsfeld, stickstoffarmem Heideboden sowie künstlichem Boden (Sand und ausgeglühtem Ton) fortgesetzt werden. Verf. wünscht, daß auch an anderen Instituten ähnliche Versuche in Gang gebracht werden möchten (was indessen auch unter Berücksichtigung der sogleich folgenden Beobachtungen des Verf. nur allenfalls dann als einigermaßen erfolgversprechend bezeichnet werden kann, wenn dafür Sorge getragen ist, daß die Versuche ununterbrochen durch eine lange Reihe von Jahren fortgeführt werden. Ref.)

Der IV. Abschnitt beschäftigt sich mit den Stickstoffschwankungen im freien Lande und deren Bestimmung. Es ist dies im wesentlichen eine gekürzte Reproduktion der schon in Bd. III, Heft 2 der Mitt. des landw. Inst. Breslau veröffentlichten und in Heft 15, 16 des XV. Bandes dieses Blattes referierten Arbeit „Ueber die Schwierigkeit, mittels der Kjeldahlschen Methode eine geringe Stickstoffvermehrung im Ackerboden festzustellen“. Verf. glaubte, daß es möglich sein müsse, eine etwaige Stickstoffassimilation in der Ackererde durch in kurzen Zwischenräumen wiederholte Gesamtstickstoffbestimmungen nachzuweisen. Natürlich bestätigten aber die Befunde diese Annahme durchaus nicht. Der wahrscheinliche Fehler stellte sich zwar auf nur 0,003 Proz., aber dem entspricht schon eine Schwankung um 238,65 kg Stickstoff pro ha. Bei mehreren gleichzeitig demselben Felde entnommenen Proben betrug die Maximaldifferenz im Stickstoffgehalt 0,01 Proz. = 790 kg pro ha!

Im V. Abschnitt wird schließlich noch die Optimaltemperatur des *Azotobacter* im Vergleich mit den im Boden vorhandenen Wärmegraden erörtert. Es werden zunächst die bekannten

Tatsachen bestätigt, daß in *Azotobacter*-Reinkulturen die stärkste Stickstoffbindung bei 25—30° stattfindet, daß sie bei Zimmertemperatur schwächer ist, und im Eisschrank (bei 4—9°) die Entwicklung sehr viel zu wünschen übrig läßt. In einer Reihe Tabellen werden sodann die Temperaturgrade mitgeteilt, die in den Jahren 1902—1904 auf dem Breslauer Versuchsfeld an der Erdoberfläche sowie in verschiedenen Tiefen auf Brachland und unter vier verschiedenen Früchten beobachtet wurden. Da Verf. meint, *Azotobacter* könne nur bei einer Temperatur von mehr als 20° im Boden tätig sein, so kämen durchschnittlich pro Jahr nur 42 Tage hierfür in betracht, und diese Zahl müsse noch weiter herabgemindert werden, weil Trockenheit und kühlere Zwischenperioden hemmend auf seine Tätigkeit im Acker einwirken sollen. (Da jedoch im Acker *Azotobacter* nicht in Reinkultur vorkommt und die Mischkulturen stickstoffbindender Erdorganismen im Laboratorium auch noch bei 10° nicht geringe Stickstoffmengen assimilieren, so müssen jedenfalls die von April bis Oktober im Boden herrschenden Temperaturen für die Stickstoffbindung im Acker als völlig ausreichend angesehen werden. Ref.)

Verf. spricht im Schlußabschnitt die Vermutung aus, daß es sich bei der Stickstofffixierung in *Azotobacter*kulturen möglicherweise um ähnliche durch die spezifischen Versuchsbedingungen ausgelöste Ausnahmeerscheinungen handelt wie bei der Alkoholgärung durch Hefe. Das Leben und Wirken des *Azotobacter* im Boden sei dagegen auch jetzt noch „ein fast ungelöstes Rätsel.“ Löhnis (Leipzig).

Warmbold, Untersuchungen über die Biologie stickstoffbindender Bakterien. — Ein Beitrag zur Kenntnis der Veränderungen im Stickstoffgehalte des unbebauten Ackerbodens. (Arbeit aus dem landw.-bakteriologischen Institut der Universität Göttingen. — Inaug.-Diss. 1905. 123 p., abgedruckt in Landw. Jahrb. Bd. XXXV. 1906. Heft 1/2.)

Die „Untersuchungen über die Biologie stickstoffbindender Bakterien“, zu denen Mischkulturen, sowie *Azotobacter chroococcum* und *Clostridium pastorianum* herangezogen wurden, bilden nur den kleineren Teil der vorliegenden Arbeit. Der Hauptteil der Ausführungen und der 55 Tabellen umfaßt die Resultate von Stickstoffbestimmungen (nach Jodlbaur und Kjeldahl), ausgeführt mit sterilisierten und nichtsterilen Erdproben, die wechselnder Temperatur, Feuchtigkeit und Durchlüftung ausgesetzt waren. Daß auch (durch 7-stündigen Aufenthalt im Trockenschrank bei 145° oder durch 2-stündiges Verweilen unter 2 Atmosphären Dampfdruck) sterilisierte Erde in ausgedehntem Maße zu den Versuchen verwendet wurde, hat darin seinen Grund, daß es dem Verf. bzw. A. Koch, auf dessen Anregung hin die vorliegende Arbeit entstand, daran lag, einerseits die nach der im einleitenden Teil gegebenen Literaturzusammenstellung näherer Erörterung bedürftige Frage der Stickstoffbindung in der Erde infolge chemischer Vorgänge weiter zu verfolgen, andererseits eine Lösung der Widersprüche zu versuchen, die sich zwischen Befunden Berthelots¹⁾ und A. Kochs²⁾ insofern ergaben, als durch Berthelot während des Winters keine, durch A.

1) Berthelot, *Chimie végétale*. Bd. I.

2) Koch, A., *Lafars Handb.* Bd. III. p. 18.

Koch aber eine sehr starke Stickstofffestlegung im Boden konstatiert worden war.

Auf Grund der Ergebnisse einiger Vorversuche wird die Fehlergrenze für die Erdstickstoffbestimmungen auf 0,002 Proz. festgesetzt, und Verf. betont, daß diese Festsetzung so vorsichtig erfolgt sei, daß die erhaltenen Resultate analytisch „unbedingt sichergestellt“ seien. Von diesen Befunden sind folgende besonders wichtig:

In sterilisiertem Ackerboden fand in zwei Versuchsreihen eine starke Anreicherung an analytisch nachweisbarem Stickstoff statt, demzufolge geschlossen wird, „daß im Boden nicht nur infolge biologischer Prozesse Stickstoff gebunden wird“. In drei unter gleichen Bedingungen angestellten Versuchsreihen blieb jedoch die Stickstoffbindung in sterilisierter Ackererde aus unbekanntem Ursachen aus.

In der einen Versuchsreihe erwies sich die Temperatur von 3—5° als besonders günstig, in einem zweiten Falle eine solche von 18—20°. Dabei war im sterilisierten Boden die Temperaturwirkung deutlicher erkennbar als im nichtsterilisierten. In einer dritten Versuchsreihe zeigten die längere Zeit bei niedriger Temperatur aufbewahrten und in mehrmonatlichen Abständen wiederholt analysierten Erdproben in regellosem Wechsel bald Verminderung, bald Erhöhung des Stickstoffgehalts. Gegen die jedesmal voraufgehende Bestimmung ergaben sich folgende Differenzen in mg (Beginn des Versuches am 28. März):

| | Rohrer Boden: | | | Steriler Boden: | | |
|---------------|---------------|---------|----------|-----------------|---------|----------|
| | 7. Mai | 2. Juni | 11. Juli | 7. Mai | 2. Juni | 11. Juli |
| nach Jodlbaur | — 1,95 | + 0,86 | — 0,39 | — 1,56 | + 1,39 | — 1,01 |
| „ Kjeldahl | — 2,40 | + 1,25 | — 0,50 | + 0,17 | — 0,37 | — 0,33 |

Bei der Ermittlung der Einwirkungen verschiedenen Wassergehalts resultierten in einer mit 100 g Erde bei 20° C und 8 bis 30 Proz. Feuchtigkeitsgehalt durchgeführten Versuchsreihe Änderungen des Stickstoffgehalts um etwa 0,005 Proz., teils nach der positiven, teils nach der negativen Seite. Bei Verwendung einer größeren Erdmenge (13,5 kg) traten stets Stickstoffverluste auf, die bei 10 Proz. und weniger Feuchtigkeit, sowie in den unteren Schichten größer waren als bei 20 bzw. 30 Proz. Wassergehalt und in den oberen Erdschichten. Bei Wiederholung dieses Versuches ergab sich kein Verlust, meist aber eine starke Zunahme an Stickstoff. „Der gleiche Boden in derselben Weise für den Versuch vorbereitet und während des Versuches behandelt, führte in einem Falle zu einem großen Verluste, im anderen zu einem recht ansehnlichen Gewinn an gebundenem Stickstoff.“ Da Stickstoffabnahme auch bei nur 2 Proz. Feuchtigkeit konstatiert wurde, so schließt Verf. hiernach: „Es muß hier somit eine chemische Umsetzung des Bodenstickstoffs, die eine Verflüchtigung in irgend einer Form zur Folge hatte, wirksam gewesen sein. Wenn die gleiche Umsetzung in der zweiten Versuchsreihe nicht eintrat, so scheint der nächstliegende Grund eine Verschiedenheit der Bindungsform und Umsetzungsfähigkeit des Bodenstickstoffs zu sein.“ Als ein weiteres Beispiel für die Möglichkeit bedeutender Abnahmen an analytisch nachweisbarem Stickstoff in wasserarmem Boden kommen einige von A. Koch ermittelte und hier mitgeteilte Zahlen in Betracht. Für eine durch einen Blechcylinder abgeschlossene, im Felde belassene, aber häufig gelockerte Erdmenge wurde von März bis Oktober 1904 eine Verringerung des Stickstoffgehalts von 0,168 auf 0,139 Proz., also ein Minus von 0,03 Proz. konstatiert, während bei den früheren, oben zitierten Untersuchungen einige andere während

des Winters in Haufen aufbewahrte und wiederholt durchgeschaufelte Erdproben ebenso enorme Stickstoffzunahmen gezeigt hatten, z. B. von 0,074 auf 0,109 Proz., also ein Plus von 0,035 Proz.

Die seitens des Verf. hinsichtlich der Einwirkung einer starken Durchlüftung des Bodens auf dessen Stickstoffgehalt ausgeführten Versuche ergaben bei Verwendung kleiner, in dünner Schicht aufbewahrter Erdmengen (150 g) eine schwache Vermehrung des vorhandenen Stickstoffes, dagegen fanden in einer anderen, mit größeren Erdmengen (mit 15 Proz. Wasser) durchgeführten Versuchsreihe durchweg geringe Stickstoffverluste statt, die durch eine häufige Lockerung des Bodens vermindert wurden.

Um die von verschiedenen Autoren vertretene Anschauung, daß das Vorhandensein von organischer Substanz der Stickstoffbindung im Boden förderlich sei, nachzuprüfen, wurden einige Versuche eingeschaltet, in denen künstlicher, aus Rohrzucker bereiteter Humus dem Boden in wechselnden Mengen zugesetzt wurde. Er erwies sich nicht nur als nicht förderlich für die Stickstoffbindung, er hob sogar, wenn er auch nur in Mengen von 2 Proz. zugesetzt wurde, die für den rohen wie für den sterilisierten Boden in diesem Falle konstatierten geringen Stickstoffzunahmen vollständig auf. An sich enthielt er pro 100 g 6 mg Stickstoff, für die am Schlusse des Versuches analysierten Proben von reinem Humus finden sich (in Tabelle 18 und 19) folgende überraschende Zahlen. Von der in der Vorlage enthaltenen Säure wurden, berechnet auf Lauge (1 ccm = 0,6158 mg N) bei der Destillation gebunden;

| Methode | verwendete Humusmenge: | auf Humus-N entfallend |
|---------------|-------------------------|------------------------|
| nach Jodlbaur | — (blinde Destillation) | 2,8 |
| | 13,1612 g, nicht steril | 0,8 — 2,0 |
| | 16,0172 " " | 2,2 — 0,6 |
| nach Jodlbaur | — (blinde Destillation) | 2,3 |
| | 17,1213 g, steril | 2,2 — 0,1 |
| | 17,2455 " " | 2,3 |
| nach Kjeldahl | — (blinde Destillation) | 1,5 |
| | 5,5585 g, steril | 1,8 + 0,3 |
| | 6,5067 " " | 2,5 + 1,0 |

Bei den Bestimmungen nach Jodlbaur wurden demnach gegenüber den blinden Destillationen meist negative Werte erhalten, während auf den in den verwendeten Proben enthaltenen Stickstoff etwa 1 ccm Lauge entfallen mußte. Nur nach Kjeldahl wurden ungefähr zutreffende Zahlen erlangt.

(Die mitgeteilten Resultate sind also fast durchweg sowohl mit den Beobachtungen anderer Autoren wie auch mit sich selbst im Widerspruch. Verf. erachtet, wie gesagt, seine Ergebnisse für analytisch „unbedingt sichergestellt“, und die zwei Analysenreihen der Vorversuche geben ihm das Recht zu dieser Meinung. Ob aber nicht doch die Fehlergrenze von 0,002 Proz. zu niedrig angenommen war? Außer den oben angeführten Befunden scheint mir hierfür noch manches andere zu sprechen. So ersieht man z. B. (aus Tabelle 4), daß ein und derselbe Boden beim Sterilisieren im Trockenschrank das eine Mal durchaus keine Veränderung im Stickstoffgehalt zeigte, das andere Mal eine Zunahme um 0,012 Proz. Im Text wird dies ebenso wie die oben zitierten Zahlen für den Humus nicht berücksichtigt. Eine Durchsicht der Schlußbilanzen der 10 Versuchsreihen läßt erkennen, daß bedeutende Differenzen nur in den beiden ersten Versuchsreihen ermittelt wurden, und zwar halten sie sich im ersten Versuch in 8 Fällen über 0,02 Proz.,

in 7 Fällen zwischen 0,02—0,01 Proz. und unter 0,01 Proz. kommen nur 5 Analysen vor; im zweiten Versuch ist dagegen nur noch ein Fall über 0,02 Proz., wieder 7 zwischen 0,02 und 0,01, aber schon 14 unter 0,01 Proz. In den weiterhin durchgeführten 8 Versuchsreihen begegnen uns dann nur noch 10 Fälle zwischen 0,010—0,016 Proz., während die übrigen 111 sich darunter halten. Jene 10 Fälle entfallen aber sämtlich auf die mit großen Erdmengen durchgeführten Versuche, bei denen die Fehler bei der Probenahme naturgemäß größere waren. Wenn wir aber nun auch unter Berücksichtigung der referierten Befunde und im Hinblick auf die Ergebnisse anderer Autoren die Fehlergrenze beträchtlich über 0,002 Proz. hinausrücken¹⁾, so restieren doch noch jene Abweichungen um ca. 0,03 Proz., die sowohl A. Koch wie der Verf. konstatiert haben. Sie bleiben völlig rätselhaft und sie werden umso unverständlicher, wenn man bedenkt, daß danach innerhalb weniger Monate Schwankungen des Stickstoffgehalts um 1000—1500 kg pro ha möglich sein müßten. Ref.)

Die im zweiten Hauptteil der Arbeit besprochenen Versuche mit Misch- und Reinkulturen stickstoffsammelnder Bakterien ergaben als wichtigste Resultate, daß bei 5° nur eine sehr geringe Stickstoffmenge festgelegt wurde, wonach geschlossen wird, daß die erwähnten, mit den Angaben Berthelots in Widerspruch stehenden Versuche A. Kochs nicht durch biologische Vorgänge erklärt werden können. *Azotobacter chroococcum* assimilierte am kräftigsten zwischen 18 und 31°. Für diese Versuche erwies es sich als besonders günstig, zur Kultur dünne Mannitagschichten zu verwenden, bei deren Bereitung das Rezept Beijerincks insofern abgeändert wurde, als statt 20 g besser 60 g Mannit pro Liter zur Verwendung kamen. Die mit solchem Agar am Boden bedeckten Erlenmeyer-Kolben müssen in schräger Lage aufbewahrt werden, da andernfalls die ausgepreßte Wasserschicht die Entwicklung der Kulturen hemmt. Von Zeit zu Zeit muß eventuell, um das Austrocknen des Agars zu verhindern, etwas Wasser steril zugeführt werden.

Bei Verwendung von Mischkulturen fand einmal bei 40° sehr bedeutende Stickstoffbindung statt. Zur Erklärung dieses auffälligen Befundes unternommene Versuche verliefen resultatlos. Die mit Reinkulturen durchgeführten Versuchsreihen zeigen ebenfalls erhebliche Abweichungen. Bei gleichmäßig gutem Wachstum konnte die Fähigkeit zur Stickstoffbindung sehr differieren, oder diese war mitunter gleich, trotz sehr ungleichen Wachstums der betreffenden Stämme. Auf 6-proz. Mannitagar wurde bis 8,40 mg pro 50 ccm Nährsubstrat gebunden. Diffuses Tageslicht schien günstig auf die Stickstoffbindung durch *Azotobacter* einzuwirken. Die auf Gewinnung einer Reinkultur von *Clostridium pastorianum* gerichteten Versuche schlugen fehl. Der aus Rohrzucker bereitete Humus wurde von den zum Versuche herangezogenen Bakterien nicht verwertet. L ö h n i s (Leipzig).

Kossowitsch, Die Kleemüdigkeit des Bodens. (Russ. Journ. f. experiment. Landw. 1905. p. 515 u. 567.)

Die Erscheinung der Kleemüdigkeit, die in besonders eklatanter

1) R. Thiele (Mitt. d. landw. Inst. Breslau. Bd. III. 1905. Heft 2) fand z. B. kürzlich für zahlreiche, gleichzeitig demselben Feld entnommene Erdproben Schwankungen des Stickstoffgehalts bis um 0,01 Proz. Verf. obiger Arbeit erhielt im gleichen Falle sogar Abweichungen bis um 0,022 Proz.

Weise auf einigen russischen Gütern auftrat, hat Verf. veranlaßt, sich mit der Frage eingehend experimentell zu beschäftigen. Die Versuche wurden in Töpfen angestellt, die mit Erde von zwei besonders von Kleemüdigkeit betroffenen Gütern beschickt waren. Es kamen von jedem Gute kleemüde und normale Böden zur Untersuchung, und zwar wurde bei Anstellung der Versuche das Hauptaugenmerk auf die beiden Fragen gerichtet:

1) Ob die Ursachen der Kleemüdigkeit des Bodens in der Erschöpfung an bestimmten Nährstoffen, oder

2) darin zu suchen seien, daß sich im Boden bei wiederholtem Anbau von Klee irgendwelche schädliche Organismen entwickeln?

Auf die Einzelheiten der 6-jährigen, außerordentlich exakten Untersuchungen, die sich der Fragestellung entsprechend auf Bodendüngung und Bodenimpfung (resp. die Wirkung der Sterilisation des Bodens) erstreckten, kann hier nicht eingegangen werden. Das russische Original enthält darüber umfangreiche tabellarisch geordnete Daten und gleichzeitig eine ausführliche kritische Besprechung der einschlägigen Literatur, auf welche hier gleichfalls nur verwiesen werden kann.

Als völlig sichere Resultate seiner Untersuchungen sieht Verf. folgende Schlüsse an: Von einer „spezifischen Kleemüdigkeit“, wenn man sie so auffaßt, daß durch die Kleepflanze selbst im Boden Verbindungen gebildet werden, die an sich dem Klee direkt schädlich sind, kann nach den Versuchen keine Rede sein, ebensowenig von einer Einwirkung schädlicher Mikroorganismen. Wenn Sterilisation des Bodens in den Versuchstöpfen außerordentlich günstig gewirkt hat, erklärt sich dieses Verhalten dadurch, daß durch die Sterilisation eine größere Menge von Nährstoffen für die Pflanzen verfügbar werden. Denn die „Kleemüdigkeit“ des Bodens ist weiter nichts als Erschöpfung an Nährstoffen, und zwar in erster Linie an Phosphorsäure und in zweiter an Kali, wobei die ungenügende Versorgung des Klees hinsichtlich dieser Nährstoffe ihn offenbar empfindlicher gegen andere für sein Wachstum ungünstige Bedingungen macht, so daß diese letzteren sich wirksam äußern können. Erklärlich ist dies durch die Art der N-Ernährung des Klees, indem einerseits die Kleepflanze bekanntlich ihren Stickstoff aus dem unerschöpflichen Luftmeer bezieht, infolgedessen N niemals ins Minimum geraten kann, wodurch die Gefahr der Erschöpfung des Bodens, namentlich an der ohnehin nicht allzu reichlichen Phosphorsäure, naheliegt. Andererseits scheint ein relativer Reichtum des Bodens an aufnehmbaren Stickstoffverbindungen die gegenseitigen Beziehungen zwischen dem Klee und den Knöllchenbakterien zu Ungunsten der Wirtspflanze zu gestalten. Wenn gegen Kleemüdigkeit eine Düngung einmal nicht hilft, so liegt der Grund dafür in der Art der Unterbringung der Düngemittel, die sich den einzelnen Böden je nach der Wurzelentwicklung des Klees und besonders auch nach der Art der Bewegung der Nährstoffe im Boden, anpassen muß. Letztere Beziehung läßt sich un schwer aus den chemischen und physikalischen Verhältnissen der Böden und ihrer klimatischen Lage erschließen.

V a g e l e r (Königsberg i. Pr.)

Parow, E., Untersuchung gefrorener Kartoffeln (Chuño) aus Bolivien. (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. Jahrg. XXVIII. No. 43.)

Der Chuño ist ein Dauerpräparat, das in Bolivien auf folgende Art hergestellt wird: Die rohen Kartoffeln werden auf die Erde geschüttet

und mit Wasser übergossen. Innerhalb einer Nacht gefrieren sie (3500 m über dem Meere, daher Winterklima), werden durch Ueberlegen eines Brettes von den Eingeborenen getreten und so von der Hauptmenge ihres Wassergehaltes befreit. Der Rückstand wird der Luft ausgesetzt und durch die eisige, wasserarme Höhenluft weiter getrocknet, bis er nach etwa 15 Proz. Wasser enthält, steinhart und unbegrenzt haltbar geworden ist. Durch Einlegen in Wasser nehmen die Konserven wieder Kartoffelform und Geschmack an.

Die Untersuchung erstreckte sich auf die Gewinnung von Stärke und Alkohol, Geschmacksprobe und chemische Analyse.

Es gelang nicht, auch mit Anwendung von Säure, durch Abschlemmen der fein gemahlene Substanz Stärke und Zellbestandteile zu trennen; jedenfalls hat das Gefrieren die verschiedenen Bestandteile der Kartoffeln also erheblich verändert. Auf etwas andere Weise ließ sich die Stärke jedoch rein darstellen. Mikroskopisch zeigten die gefrorenen Stärkekörner einen Riß in der Nähe des Kornes.

Die Alkoholgewinnung verlief normal, nur ging die Ueberführung der Stärke in Maltose schneller von statten als unter gewöhnlichen Umständen.

Geschmack und chemische Zusammensetzung entsprachen fast vollkommen den normalen Verhältnissen. Seligmann (Berlin).

Ward, H. Marshall, Recent researches on the parasitism of Fungi. (Annals of Botany. Vol. XIX. 1905. p. 1—55.)

Im ersten Teil behandelt Verf. die historische Entwicklung der Mykologie im vergangenen Jahrhundert unter besonderer Berücksichtigung der Fortschritte unseres Wissens auf dem Gebiet der heterocischen Rostpilze. Eingehender werden folgende Punkte erörtert:

Keimung der Uredosporen (es wird hervorgehoben, daß die Uredosporen einen viel höheren Grad von Widerstandsfähigkeit besitzen, als für gewöhnlich angenommen wird und daß viele sehr wohl überwintern können), Spezialisierung des Parasitismus (eine vielen Pilzgruppen eigentümliche Erscheinung), Immunität und Prädisposition, Infektion.

Einen großen Raum nimmt — und dies ist der zweite Teil der Arbeit — die Bekämpfung der Erikssonschen Mykoplasmahypothese ein. Einerseits stützt sich Verf. auf die Resultate seiner Reinkulturen, andererseits ist er der Ueberzeugung, daß ein durch das Stoma eintretender Keimschlauch in der Nähe eines „Protomycelium“ oder „Mykoplasmas“ mittels Serienschnitten zu finden sein müßte.

In der von ihm entdeckten Erscheinung der „bridgeing species“ (z. B. *Bromus arduennensis* ist eine „bridgeing species“ für *Puccinia dispersa*, so daß dieser Pilz auf drei von den fünf Gruppen von *Bromus* übergehen kann) sieht Verf. einen Schlüssel für die Erklärung der immer weitere Kreise von Wirtspflanzen treffenden Spezialisierung des Parasitismus.

Endlich macht er über das Wesen der Immunität interessante (an *Puccinia glumarum* ermittelte) Angaben. Wenn Uredosporen auf immunem Weizen keimten, so drangen ihre Keimschläuche wie gewöhnlich durch die Spaltöffnungen ins Innere des Blattes ein, brachten auch einige Zellen zum Absterben, gingen aber selbst nach kurzer Zeit an vollkommener Entkräftung zu Grunde. Neger (Tharandt).

Smith, Erwin F., Bacteria in relation to plant diseases. Vol. I. (U. S. Department of Agriculture, Washington, D. C., U. S. A.) Washington 1905.

Alle diejenigen, welche die Arbeiten Dr. Smiths kennen, werden den kürzlich erschienenen 1. Band seines Werkes über die Beziehungen der Bakterien zu den Pflanzenkrankheiten mit Freuden begrüßt haben. Ihm mehr als jedem andern danken wir die großen Fortschritte in unserer Kenntnis dieses Zweiges der Bakteriologie, und wir können überzeugt sein, daß ein Werk aus Meisterhand uns vorliegt.

Obgleich der gegenwärtig erschienene Band sich speziell mit den Arbeitsmethoden und der allgemeinen Literatur über den Gegenstand befaßt, verdient er dennoch eine genaue Durchsicht und sollte in keinem Laboratorium wegen der Weite seiner Anlage und der Klarheit in der Beschreibung der Einzelheiten fehlen. Wahrscheinlich sind in keinem früheren Werke so gewissenhaft die genauen Methoden der bakteriologischen Untersuchung beschrieben worden.

Der Verf. verfolgt in seiner Arbeit drei ganz bestimmte Ziele. Erstlich will er in das Chaos der ungenauen und einander widersprechenden Beschreibungen Ordnung bringen und nicht nur dem rein botanischen Wissen, sondern auch der Anwendung der bakteriologischen Technik Geltung verschaffen. Zweitens bietet er die wichtigste Literatur über den Gegenstand in Form einer kritischen Bibliographie dar und endlich prüft er alle sogenannten Bakterienkrankheiten der Pflanzen im Laboratorium, auf dem Felde oder im Gewächshaus, indem er jeden vermuteten bakteriellen Parasiten sämtlichen Proben der modernen Pathologie unterzieht. Hierin steckt der bei weitem größte Teil der Arbeit, da die Zahl der durch Bakterien verursachten Krankheiten in den letzten Jahren bedeutend gewachsen ist. Hier liegt auch augenscheinlich die wirtschaftliche Bedeutung des Werkes.

Im 1. Teile des Bandes werden die allgemeinen Forschungsmethoden bei diesen Krankheiten besprochen. Der Charakter der Krankheit selbst, die Abweichung von den normalen Funktionen oder der normalen Struktur der Pflanzen, ihre geographische Verbreitung, die für sie typischen krankhaften Veränderungen oder „Zeichen“, wie der Verf. sie nennt, die pathologische Histologie und das Studium direkter Infektionsexperimente werden hier behandelt.

Dann folgt eine genaue Darstellung der zur Untersuchung der spezifischen Merkmale des Organismus selbst benutzten Methoden, welche mit einem streng nach Kochscher Vorschrift geführten Beweise seiner Beziehung zur fraglichen Krankheit beginnt. Bei der Führung dieses Beweises wird der Organismus in erschöpfender und gründlicher Weise studiert. Hunderte von Exemplaren werden vielleicht untersucht und alle Sorten von Normal-Nährsubstanzen und zusammengesetzten Kulturmedien kommen zur Verwendung. Bei den Impfversuchen werden große Mengen von Pflanzen infiziert und gleichzeitig werden viele nicht infizierte Pflanzen zur Kontrolle herangezogen.

Auf diese Beschreibung der allgemeinen Arbeitsweise beim Studium der Krankheiten folgt eine kurze, aber ausgezeichnete Besprechung der morphologischen und physiologischen Merkmale der Bakterien. Augenscheinlich hält der Verf. nur ein solches Studium der pathogenen Organismen für genau und erschöpfend, welches sich auf eine gründliche Kenntnis der grundlegenden, Form und Lebensweise der Bakterien im allgemeinen betreffenden Tatsachen stützt. An dieser Stelle findet sich auch eine genaue Beschreibung der Kulturmedien, sowohl der gewöhnlichen wie der rein synthetischen; ebenso werden die Methoden zur experimentellen Untersuchung dieser Dinge in Wort und Bild genau angegeben.

In dem allgemeinen Kapitel über Physiologie werden die Reaktionen auf Färbemittel behandelt, ferner die Identifizierung von Stoffwechselprodukten, wie Säuren, Ammoniak und Amine, Schwefelwasserstoff, Mercaptane, Indol, Phenol, Leucin, Tyrosin etc., die Reduktion der Nitrate, die Fixierung von freiem Ammoniak, die Assimilation von Kohlendioxyd, und endlich folgt noch eine Studie über die Pigmente und Enzyme der Organismen.

Die wirtschaftliche Seite der Sache wird unter 4 Gesichtspunkten betrachtet: 1) finanzielle, durch Pflanzenkrankheiten verursachte Verluste, 2) natürliche Methoden der Infektion, 3) Bedingungen, welche die Ausbreitung von Krankheiten begünstigen, 4) Schutzmaßregeln.

Gegenwärtig ist es schwierig, die aus dieser Quelle stammenden Verluste annähernd genau abzuschätzen. Bei den Arten der Infektionen werden zahlreiche Infektionsursachen aufgeführt, so z. B. Beschädigungen durch Pilze, Insekten, Vögel oder Vierfüßler, Benutzung von infizierten Werkzeugen, infiziertem Samen oder infiziertem Dünger. Die Verbreitung kann durch verschiedene Witterungsverhältnisse begünstigt werden, so durch Fehlen der Drainage, durch Nichtzerstören der zuerst infizierten Pflanzen, Insekten oder Schnecken, welche die Parasiten verschleppen können.

Die Unterbringung, Ausrüstung und Instandhaltung der Laboratorien werden danach ausführlich besprochen. Nur wenige Laboratorien, mit Ausnahme der reich ausgestatteten, werden sich eine so vollständige und kostspielige Ausrüstung gestatten können; aber jedes Institut, welches sich diesen Band anschafft, wird durch die Fülle der darin gebotenen fruchtbaren Anregung, der darin angegebenen Hilfsmittel etc. sicherlich Arbeit ersparen.

Die Abschnitte über Präparate, Kulturmedien, Apparate, Photographie, Mikrophotographie und besonders die umfassende Sammlung von Formeln für Färbereagentien, Kulturmedien und alle Arten von Fixierflüssigkeiten machen diesen Teil des Buches äußerst wertvoll für den Laboratoriumsbakteriologen, in welcher Richtung er auch arbeiten mag.

Der letzte Teil des Buches enthält eine bakteriologische Bibliographie. Diese ist, wie besonders betont wird, nicht vollständig, aber enthält die wichtigsten Hinweise auf beinahe alle Seiten der allgemeinen und industriellen Bakteriologie.

Oft sind die Hauptergebnisse einer langen Arbeit in einen kurzen Abschnitt zusammengedrängt, was dem Benutzer des Buches viel Zeit erspart. Dieser Teil des Werkes kann gar nicht hoch genug geschätzt werden, denn er kann auf dem ganzen Gebiete der Bakteriologie als Führer dienen.

Sowohl für den Dozenten wie für den Forscher wird das Buch als Nachschlagewerk von größtem Werte sein und kann wegen seiner Gründlichkeit, wegen der Vollständigkeit seiner Beschreibungen und wegen seines Reichtums an Abbildungen durchaus empfohlen werden. Vor allem verdient die sorgfältige, mühevolle, wissenschaftlich aufgefaßte Arbeit, die in dem Werke steckt, welche Dr. Smith zu einem der bedeutendsten und erfolgreichsten Arbeiten auf dem Gebiete der Pflanzenkrankheiten gemacht hat, die vollste Anerkennung.

Prescott (Boston).

Fischer, Eduard, Ueber den Wirtwechsel bei den parasitischen Pilzen. (Mitteilungen der naturforschenden Gesellschaft in Bern aus dem Jahre 1904. No. 1565—1590. Bern 1905. p. V—VI.)

Wirtwechsel ist bekannt nur bei den Ascomyceten und Uredineen. Bei ersteren sind nur für eine Art, *Sclerotinia heteroica*, zwei Wirte nachgewiesen, die zwei nahe verwandte Pflanzen sind, nämlich *Ledum palustre* und *Vaccinium uliginosum*. Ein Wirtwechsel kommt höchst wahrscheinlich auch der *Sclerotinia Rhododendri* zu. Bei den Uredineen dagegen sind etwa 150 heterözische Arten bekannt; dabei zeigen sich folgende Eigentümlichkeiten: 1) Der Wirtwechsel ist streng obligat, d. h. es gelang bisher nicht, eine dieser Arten dazu zu bringen, ihren ganzen Entwicklungsgang auf nur einer ihrer zwei Nährpflanzen zu vollziehen. 2) Die beiden Wirte sind immer Pflanzen, die im Systeme weit voneinander entfernt sind. 3) Jede Generation der wirtwechselnden Rostpilze ist in der Wahl ihrer Nährpflanzen auf einige oder auf wenige nahe verwandte Arten beschränkt; eine Ausnahme bildet nur *Cronartium asclepiadeum*, dessen Teleutosporengeneration auf *Vincetoxicum*, *Paeonia* und auf der *Scrophulariacee Nemesia* leben kann. 4) Man muß sich phylogenetisch die Heterözie in den verschiedenen Artgruppen und Gattungen unabhängig entstanden denken, da gar manche der heterözischen Uredineen ihre nächsten Verwandten sehr oft unter den nicht wirtwechselnden Arten hat. Die Umbelliferen bewohnenden Puccinien haben heterözische Vertreter, die auch auf *Polygonum* übergehen. Ueber diese Entstehung des Wirtwechsels denkt Verf. folgendermaßen: Die hypothetische Stammform dieser Gruppe vermochte unterschiedlos sowohl auf Polygonaceen wie auch auf Umbelliferen ihre ganze Entwicklung zu durchlaufen und konnte beliebig von Vertretern der einen Familie auf solche der anderen übergehen. Bei den Deszendenten erfolgte dann eine Weiterentwicklung nach 2 Reihen: a) Die eine Generation (Aecidiengen.) gewöhnte sich ausschließlich an die Umbelliferen, die andere (Teleutosporengen.) ausschließlich an *Polygonum* (heterözische Arten). b) Bei anderen Deszendenten gewöhnt sich der Parasit für den ganzen Entwicklungsverlauf nur an die Umbelliferen (nicht wirtwechselnde Arten).

Matouschek (Reichenberg).

Hunger, Untersuchungen und Betrachtungen über die Mosaikkrankheit der Tabakspflanze. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. 1905. Heft 5.)

Nach einem kurzen, geschichtlichen Ueberblick geht Verf. auf die bisher über die Ursache der Mosaikkrankheit aufgestellten Theorien ein:

1) Theorien über die bakterielle Natur der Mosaikkrankheit.

Zuerst stellte Adolf Mayer auf Grund der Beobachtung, daß der durch Reibung erhaltene Saft von kranken Pflanzen ein sicherer Infektionsstoff für gesunde Pflanzen sei, die Behauptung von der bakteriellen Natur der Krankheit auf. Dann wollen Iwanowski, Prillieux und Delacroix, endlich Marchal und Koning, sowie van Breda de Haan die Erreger der Krankheit gesehen bzw. isoliert haben; auch Bouygues ist noch zu nennen. Nur Iwanowskis Untersuchungen würdigt Verf. einer eingehenden Besprechung, im Verlauf deren die auch von Beijerinck und Koning bestätigte Eigenschaft des Saftes mosaikkranker Blätter, seine ansteckenden Eigenschaften sogar nach Filtration durch Chamberlandkerzen zu bewahren, Erwähnung findet. Verf. konnte das Gleiche auch für Kitasatokerzen feststellen, tritt aber der Behauptung Iwanowskis, daß sein von ihm als $0,3 \mu$ groß bezeichneter Mosaik-

krankheitserreger solche Kerzen passieren könne, sowie andern Ansichten desselben Autors scharf entgegen.

2) Theorie von Beijerinck über die Mosaikkrankheit.

Der holländische Forscher vertritt mit Entschiedenheit den Standpunkt, daß ein „Contagium vivum fluidum“, also nicht Mikroben, die Mosaikkrankheit verursache. Indes sollen die von diesem Forscher zur Stütze seiner Anschauungen beigebrachten Gründe teils durch Ausführungen Iwanowskis, teils durch solche des Verf. als haltlos erwiesen sein.

3) Theorie Woods über die Mosaikkrankheit.

Die Ansicht, daß die Mosaikkrankheit durch die oxydierenden Enzyme der Tabakspflanze verursacht werde, ist von Woods wie Heintzel selbständig aufgestellt worden. Verf. tritt der bereits von Iwanowski bekämpften Theorie auf Grund seiner Nachprüfungen entgegen. Er betont, daß die betreffenden Forscher die reduzierenden Stoffe, welche stets die oxydierenden Enzyme begleiten, vielleicht zu wenig in Rechnung gebracht haben und so beim kranken Blatt, das weniger reduzierende Stoffe, so u. a. Gerbsäure, enthält, die stärker auftretende Oxydasenreaktion auf Rechnung von mehr vorhandenen Enzymen setzten, statt sie als Folge des verminderten Gehalts an reduzierenden Stoffen aufzufassen. Auch die Uebertragung ad infinitum der Mosaikkrankheit, wie das Passieren des Virus durch Diffusionshülsen kann nicht mit einem Vorhandensein von Oxydasen zusammengebracht werden.

4) Theorie des Verf. über die Mosaikkrankheit.

Die Mosaikkrankheit ist, wie Verf. glaubt, ausschließlich die Folge von Störungen im normalen Stoffwechsel der Tabakspflanze, infolge deren die bekannten äußeren Krankheitserscheinungen auftreten, die als besondere Art der Buntblättrigkeit aufzufassen sind; allerdings unterschieden z. B. von dem infektiösen Albinismus bei *Abutilon Thomsoni* durch die Uebertragbarkeit durch Saft zerriebener kranker Pflanzen.

Es folgt nun eine Besprechung der äußeren Krankheitserscheinungen, aus der zu erwähnen ist, daß nach Heintzel sich die Fleckung oft auch bei Kelch- und Kronenblättern äußert, was mit Erscheinungen an anderen panachierten Pflanzen übereinstimmt. — Die Qualität der mosaikkranken Blätter ist übrigens durchaus untauglich für den Handel.

Bezüglich des Auftretens der Krankheit nimmt Verf. im Zusammenhang mit seiner Theorie an, daß sie sowohl durch Ansteckung wie ohne eine solche ausbrechen kann. Ihr autonomes Erscheinen tritt nur spontan, den Gesetzen der Variationslehre gemäß, ein. Die Anlage zur mosaikartigen Buntblättrigkeit ist also demnach schon in der normalen Tabakspflanze in latenter Form vorhanden. Das Sichtbarwerden der Anlage wird sich aber besonders leicht in Tabakssorten ereignen, welche wie der Delitabak degenerative Eigenschaften zeigen. Die Züchtung auf Dünnblättrigkeit hin, welche bei diesem besonders als Deckblatt geschätzten Tabak seit längerer Zeit durchgeführt wird, hat sehr gegen größere Wärme und andere Schädigungen empfindliche Pflanzen erzeugt, und Verf. glaubt, daß die Möglichkeit für das Auftreten der Mosaikkrankheit bei Delitabak unzweifelhaft durch seine Dünnblättrigkeit vergrößert wird. Der Hauptfaktor für das Erscheinen der Krankheit bleibt jedoch immer die individuelle Prädisposition der Pflanze. Auch dem Boden wird eine gewisse Bedeutung zugesprochen.

Was die zweite Art der Verbreitung der Mosaikkrankheit durch Ansteckung anbetrifft, so stellte Verf. fest, daß z. B. beim Raupenabsuchen

die oberflächliche Berührung einer mosaikkranken Pflanze schon genügt um eine gesunde Tabaksstaude anzustecken. So müssen besonders ungeschickte und kurzsichtige Arbeiter zur Verschleppung der Krankheit beitragen, weil sie die Pflanzen beim Raupensammeln viel berühren, was mit den Erfahrungen der Praxis wohl übereinstimmt. Bezüglich der Ansteckungsart stellt Verf. die auch schon früher vorhandene Ansicht auf, daß die Mosaikkrankheit nicht direkt ansteckend ist, und belegt sie durch Versuchsergebnisse. Die bloße Anwesenheit einer mosaikkranken Pflanze in einem Felde mit gesunden Exemplaren ist ohne weiteres durchaus ungefährlich für die Umgebung; denn die Uebertragung läßt sich bloß durch einen Vermittler vollziehen. Das Krankheitsgift hält Verf. jedoch nicht für eine belebte Substanz, und stellt sich die Ansteckungswirkung so vor, daß ein in mosaikkranken Zellen erzeugtes Toxin die Eigenschaft besitzt, physiologisch-autokatalytisch zu wirken, also beim Eindringen in normale Zellen eine physiologische Kontaktwirkung auszuüben mit dem Erfolg, daß sich dort sekundär das gleiche Toxin bildet.

Es folgen nun noch Ausführungen über die Mosaikkrankheit im Zusammenhang mit der Pockenkrankheit des Tabaks, bezw. über die Gleichartigkeit oder Verschiedenartigkeit dieser pathogenen Erscheinungen am Tabak. Verf. stellt sich ganz auf den Standpunkt Iwanowskis, daß die Pockenkrankheit keinesfalls als ein Endstadium der Mosaikkrankheit aufgefaßt werden darf. Doch glaubt er auch für die Pockenkrankheit, die er wie die Mosaikkrankheit als Stoffwechselkrankheit des Tabaks ansieht, einen intoxicablen Charakter, ähnlich wie bei dieser, annehmen zu sollen.

Was Vorbeugung und Bekämpfung der Mosaikkrankheit anbelangt, so glaubt Verf. nach Erwähnung der Ratschläge anderer Forscher die Erzielung größerer Blattdicke besonders empfehlen zu sollen. So ist der ungarische Kapatabak z. B. in den Tropen vollständig immun, und seine Blattdicke verhält sich zu der des Delitabaks wie 61 zu 37. Weiter ist die Gewinnung des Samens zu verbessern, und die Aufbewahrung mit Zusatz von Holzasche, um Fäulnis und Feuchtigkeit abzuhalten, durchzuführen.

(Die Arbeit, welche in ihren theoretischen Ausführungen ja teilweise völlige Nova bringt, bietet leider nur ziemlich wenig experimentelles Material, so daß sie kaum die behandelte Frage entschieden haben dürfte.)

Ehrenberg (Breslau).

Maublanc, A., *Trichoseptoria fructigena* nov. sp. (Bulletin Soc. Mycol. France. T. XXI. 1905. p. 95—97. Mit Textfiguren.)

Auf reifen Früchten von *Pirus Malus* und *Cydonia vulgaris* tritt dieser Pilz auf. Wegen des weichen und mehr grauen Fruchtkörpers will Verf. die Gattung *Trichoseptoria* eher zu den Nektrioideen als zu den Sphärioideen stellen.

Matouschek (Reichenberg).

Henneberg, W., Versuche über die Widerstandsfähigkeit der verschiedenen Kartoffelsorten gegen Fäulnisbakterien. (Zeitschrift für Spiritusindustrie. 1906. p. 52.)

Es ist seit langem bekannt, daß künstlich mit Fäulnisbakterien infizierte Knollen in Fäulnis übergehen, nur ist die Frage noch strittig, ob in den Mieten die Fäulnisbakterien und andere Pilze in allen Fällen die Ursache des Verderbens sind. Eine Kartoffel, die sich gegen Fäulnis in den Mieten widerstandsfähig erweist, ist jedenfalls für die Praxis von hohem Wert. Da die Haltbarkeit einer Sorte vielfach zu spät erkannt

wird, so wäre eine Methode, die die Haltbarkeit frühzeitig angeben könnte, zur Vermeidung von großen Verlusten außerordentlich wertvoll. Es läßt sich vielleicht die Widerstandsfähigkeit der Kartoffeln gegen Fäulnisbakterien auch durch die chemische Analyse feststellen; doch erscheint von vornherein viel einfacher eine biologische Methode. Verf. hat sich nun mit vorliegender Frage näher beschäftigt und Ergebnisse erhalten, die allgemeines Interesse beanspruchen. Weiterer Versuche bedarf es aber noch, um festzustellen, ob die eingeschlagene Untersuchungsmethode sichere Ergebnisse liefert, so daß sie für die Praxis in allen Fällen brauchbar ist. Wehmer hat bereits früher festgestellt, daß die Kartoffeln nur dann faulen, wenn zugleich die Verhältnisse für dieselben ungünstige sind. Eine durch Anstechen u. s. w. infizierte Kartoffel fault nicht, wenn sie z. B. an der Luft liegen bleibt, jedoch aber sehr bald, wenn sie durch Eintauchen in Wasser oder sonst irgendwie an der Atmung behindert ist. Wie Müller und Verf. fanden, geht die Fäulnis der Kartoffeln unter Wasser am schnellsten bei Temperaturen von 30—36° C von statten. Angestochene, d. h. infizierte Kartoffeln waren unter diesen Bedingungen bei 30—32° C bereits am 2 Tage, bei 26—27° C am 5. Tage, bei 18—20° C am 6. Tage und bei 10° C erst nach längerer Zeit völlig faul geworden und infolge der Gasbildung im Innern an die Oberfläche des Wassers gestiegen. Angestochene Kartoffeln faulen unter den genannten Bedingungen am schnellsten, etwas später faulen unverletzte Kartoffeln in an Fäulnisbakterien reichem Wasser und viel später ebensolche in reinem Wasser. Nach dieser Methode hat Verf. 20 verschiedene Kartoffelsorten in Bezug auf die Schnelligkeit des Faulwerdens untersucht. Da die Versuche bezüglich der Temperaturverhältnisse wiederholt werden müssen, so läßt sich noch nicht feststellen, wie weit die Ergebnisse mit anderen durchgeführten Versuchen übereinstimmen. Bei diesen Versuchen wurden die Kartoffeln nicht durch Einlegen in Wasser, sondern durch Einbringen in große, mit eingeschliffenem Glasstopfen luftdicht verschließbare Glaszylinder für die Bakterieninfektion empfänglich gemacht. Die Versuchstemperaturen lagen zwischen 20—27° C und die Infizierung der Knollen und Fäulnisbacillen geschah durch Einstechen eines sehr dünnen Messers, das in die erweichten Massen einer frisch faulenden Kartoffel eingetaucht war, wobei das Impfmateriale und die Menge desselben nach Möglichkeit gleich blieb. Bezüglich der Einzelheiten in der Durchführung der Versuche, die mit einer großen Anzahl von Kartoffelsorten durchgeführt wurden, muß auf die Abhandlung verwiesen werden.

Die Untersuchungen haben zu folgenden Ergebnissen geführt: 1) Die Arten der eingepfachten Fäulnisbakterien sind noch nicht festgestellt, doch handelt es sich jedenfalls um eine *Granulobakter*-Art und daneben um eine kleinzellige Art. Aus der Kartoffel tritt bei Beginn der Fäulnis ein schaumiger Saft hervor und das Innere verwandelt sich in einen schaumigen, oft stark fadenziehenden Brei, der vielfach durch die Stichwunde infolge der Gasentwicklung zum größten Teil herausgepreßt wird. Der Geruch ist kloakenartig, manchmal auch stark nach Amylalkohol. Mit Reinkultur geimpfte Kartoffeln hatten bisher kein nennenswertes Ergebnis. 2) Die einzelnen Kartoffeln derselben Sorte und die einzelnen Sorten untereinander verhalten sich den Bakterien gegenüber manchmal ganz verschieden. Je mehr Zucker in der Kartoffel ist, desto weniger widerstandsfähig ist sie. Dabei kommen aber auch noch andere Umstände in Betracht. Jedenfalls muß die chemische

Analyse im Zusammenhang mit den Infektionsversuchen weiter genau beachtet werden. 3) Bei den Laboratoriumsversuchen konnte ein „Angesteckt-werden“ der gesunden durch die faulenden Kartoffeln vielfach festgestellt werden, doch dürfte die erste Ursache der Erkrankung wohl der größere Wassergehalt in der eingeschlossenen Luft oder mehr noch die direkte Benetzung mit dem fauligen Saft sein. Die Bacillen wandern dann von den faulenden in die abgeschwächten Knollen ein und die Fäulnis geht in diesem Falle von der Schale aus. In den Mieten dürfte dasselbe der Fall sein. 4) Ein Auskeimen der Knollen erfolgte bisher nur in den Fällen, in welchen der Verschuß der Versuchsgefäße nicht luftdicht war oder nur wenige Knollen in einem großen Glas aufbewahrt wurden. Der Impfstich ließ in diesen Fällen keine Bakterien aufkommen. Nach den bisherigen Erfahrungen scheint die biologische Untersuchungsart der verschiedenen Sorten sehr aussichtsreich zu sein. Weiteren Untersuchungen bleibt es noch vorbehalten, den Einfluß der Düngung, der Witterung, des Lagerns, des Alters, der Größe u. s. w. auf die Widerstandsfähigkeit gegen Fäulnisbakterien festzustellen. Vielleicht bedeutet die Widerstandsfähigkeit gegen Bakterien überhaupt „Haltbarkeit“, oder aus ersterer lassen sich vielleicht auf die allgemeine Haltbarkeit brauchbare Schlüsse ziehen.

Stift (Wien).

Salmon, E. S., Further cultural experiments with „biologic forms“ of the Erysiphaecae. (Annals of Botany. Vol. XIX. 1905. p. 125—148.)

Nachdem Verf. früher nachgewiesen hatte, daß „spezialisierte Formen“ von Erysiphe Graminis auch solche Arten von Gramineen, an welche sie nicht angepaßt sind, zu infizieren vermögen, sofern diese Pflanzen in irgend einer Weise (z. B. durch Verwundung) geschwächt worden sind, führt er in der vorliegenden Arbeit dieses Thema weiter aus. Er zeigt, daß die abnorme Art von Infektion nicht nur mit Conidien, sondern auch mit Ascosporen erzielt werden kann, ferner, daß diese eine abnormale Infektion nach sich ziehende Schwächung auch durch andere Einflüsse, nämlich durch narkotische Mittel, z. B. Aether, durch Hitze etc. bewirkt werden kann und führt im Anschluß daran aus, daß derartige Vorgänge sich auch in der freien Natur abspielen werden, z. B. nach Verletzungen durch Frost, Hagel, Wind, Tierfraß etc. Er schlägt sodann zwei neue termini technici vor: Oecoparasitismus und Xenoparasitismus. Der erstere Fall tritt ein, wenn ein an eine bestimmte Wirtspflanze angepaßter (spezialisierter) Pilz diese Pflanze unter normalen Verhältnissen — also ohne vorherige Schwächung — infiziert; hingegen wäre ein Pilz als Xenoparasit zu bezeichnen, wenn er eine unter normalen Verhältnissen immune Wirtspflanze infiziert. Verf. sucht diese Erscheinung der Infektion geschwächter Individuen durch sonst machtlose Parasiten so zu erklären, daß er annimmt, die betreffenden Pflanzen hätten infolge der Verletzung, Aetherisierung etc. die Fähigkeit verloren, gewisse, unter normalen Verhältnissen wirksame, pilzfeindliche Enzyme zu entwickeln.

Neger (Tharandt).

Brefeld, Oskar und Falck, Richard, Die Blüteninfektion bei den Brandpilzen und die natürliche Verbreitung der Brandkrankheiten. [Untersuchungen aus dem Gesamtgebiet der Mykologie. Heft XIII: Brandpilze (Hemibasidii) IV.] 75 p. mit 2 Lichtdrucktafeln. Münster i. W. (Kommissionsverlag von H. Schöning) 1905.

Eine Fortsetzung der schon in 3 Teilen, welche im 7., 11. und 12. Bande des obengenannten Werkes enthalten sind, veröffentlichten Arbeiten über Brandpilze.

Die Untersuchungen von Tulasne und J. Kühn gaben ein geschlossenes Bild von der Aetiologie der Brandkrankheiten, das jedem bekannt ist. Verf. fand schon früher, daß die Ustilagineen als Saprophyten in Nährlösungen und Nährsubstraten leben können. Dies lehrt, daß selbst die spezifischsten unter allen Parasiten, die Brandpilze also, eigentlich nur fakultative Parasiten sind. Die vom Verf. seinerzeit vorgenommenen Infektionsversuche ergaben, kurz erläutert, folgendes: 1) Die jungen Keime des Hafers und der Mohrenhirse sind für die Infektion durch die Brandpilze empfänglich. Es ist die Infektion durch Anblasen von Konidien möglich, aber auch die im Boden und namentlich im gedüngten Boden lebenden und sich weiter entwickelnden Keime befallen die Nährpflanzen. Die Infektionskeime sind die Konidien. 2) Beim Mais brachte die Infektion durch Anblasen mit Konidien und auch die Infektion des Bodens mit diesen Infektionskeimen keine Resultate. Nur die zarteren Teile der entwickelten Pflanze werden von Luftkonidien befallen, welche sich auf den Hefekonidien, die saprophytisch im Boden leben, bilden. Der Wind spielt bei der Verbreitung dieser Keime eine sehr große Rolle. Künstlich eingeleitete Infektion, z. B. der Vegetationsspitze mit diesen Keimen, gelang. Es zeigte sich aber auch, daß die jungen Fruchtknoten infizierbar sind. Wenn nun dies beim Mais eintreten kann, so wirft sich von selbst die Frage auf, ob nicht auch bei anderen Pflanzen die weiblichen Blütenteile infizierbar wären. — So weit waren nun die Untersuchungen des Verf. bis zum Jahre 1895 gediehen.

Zur Lösung der eben ausgesprochenen Frage waren Untersuchungen über die Blüteninfektion bei den Brandpilzen nötig. Es können nun entweder die Sporen pulverig sein (Flugbrand der Gerste, des Weizens und des Hafers), oder es können an Stelle der Brandsporen die Luftkonidien die Verstäubung übernehmen (*Ustilago Maydis*, *U. destruens* und Formen von *Tilletia*). In beiden Fällen handelt es sich um windblütige Pflanzen und um windblütige Formen von Brandpilzen. Die vom Verf. eingeführten Methoden sind: a) die Cylinderinfektion: die zu infizierenden Organe werden in eine Röhre gesteckt, dessen untere Mündung lose mit einem Wattepfropfen verschlossen ist; zum Anblasen dient ein Ballon aus starkem Gummi. b) Künstliche Einführung von Brandsporen in die einzelnen Blüten mit einem Pinsel. Man kommt häufig in die Lage, die Sporen bis zum nächsten Frühjahr frisch erhalten zu müssen, was dem Verf. auch gelungen ist. Man sprühte nicht nur die Keimlinge an, sondern infizierte auch den Boden und Kompost, aber auch Getreidekörner wurden direkt mit trockenen Brandsporen angeblasen und in die Erde gelegt. Die außerordentlich exakt durchgeführten Versuche wurden an verschiedenen Arten vorgenommen und es ergaben sich folgende wichtige Resultate:

I. Weizen (*Ustilago tritici* Rostr.). Narbeninfektion mit Pinsel und Cylinderinfektion. Die Ernte ergab dem Aussehen nach ganz gesunde Körner. Die gekeimten Pflanzen aus diesen Körnern wurden in das Freiland versetzt; der Weizen war sehr stark infiziert. Es mußte also die Infektion in den Blüten erfolgt sein. Die jungen Fruchtknoten mit ihren Narben wurden von den durch die Luft verstäubenden In-

fektionskeimen direkt befallen. Der Brand aber entwickelt sich nicht in demselben Jahre, sondern die in die jungen Fruchtanlagen eingedrungenen Infektionskeime bleiben in dem gereiften Korne latent. Nach überstandener Samenruhe wachsen sie beim Auskeimen des Keimlings mit, um erst in den Blütenständen zur Erzeugung der Brandlager überzugehen. Die Infektion der jungen Keimlinge, äußerst variiert vorgekommen, blieb erfolglos. Die Blüteninfektion hat also hier den vollen, ja totalen Erfolg, sie ist die vorherrschende, wenn nicht einzige Infektionsform dieses Brandes.

II. Gerste (*Ustilago hordei*; nicht der Testabrand, der ja nicht verstäubt). Hier gilt das Gleiche, was beim Weizen gesagt wurde. Es ist also die Infektion der Blüten zur wissenschaftlichen Tatsache geworden. Die in den jungen Fruchtknoten eingedrungenen Keime (die keimenden Brandsporen) bleiben hier verborgen und kommen bis zur vollen Reife der Körner zu keiner fruktifikativen Entwicklung und zwar gerade an der Stelle, wo sonst die Brandlager stets und allein zur Ausbildung kommen. Der anatomische Befund zeigt, daß im Saatgute die Brandkeime vorhanden sind und während der Samenruhe im Stillstande verharren. Die Infektion wird durch die Samenruhe vorübergehend unterbrochen, erst mit der Keimung des Samens kommt der Pilz zur weiteren Entwicklung, um dann wie durch einen Zauberschlag die Brandlager in den Fruchtständen zu entwickeln. Diese für die Biologie der Brandpilze sehr wichtige Tatsache hat aber für die Praxis der Landwirte noch einen bedeutend größeren Wert, denn

1) Die brandigen Individuen in einem aufblühenden Getreidefelde sind die Infektionsherde für die Ansteckung; die Weiterverbreitung des Brandes erfolgt durch den Wind.

2) Es muß nur reines Saatgut von bandfreien Feldern verwendet werden; denn nur dann müssen die Branderscheinungen unbedingt allmählich zurüctreten, um endlich ganz aufzuhören.

3) Die im Saatgute latenten Infektionskeime bleiben für die Dauer von 2 Jahren (vielleicht noch länger) entwicklungsfähig. Aelteres als 2-jähriges Saatgut kommt in der Praxis nicht zur Verwendung. Darum doppelte Vorsicht!

4) Die Beizung des Saatgutes ist für die Formen des Flugbrandes beim Weizen und bei der Gerste zwecklos. Gebeiztes Getreide, das in der Blüte infiziert war, hat total brandige Felder hervorgerufen.

Dies alles bedeutet eine totale Umwälzung der Ansichten nicht nur des Botanikers, sondern auch des Landwirtes.

Die Versuche zur Entscheidung der Frage, ob der Flugbrand des Weizens identisch ist mit dem Flugbrande der Gerste, konnte nicht abgeschlossen werden; sie werden später mitgeteilt.

III. Hafer. Wir müssen vorausschicken, daß dieser Flugbrand nicht steril, sondern fruktifikativ auskeimt, da von den Hemibasidien Konidien gebildet werden und diese durch direkte Sprossung eine höchst charakteristische Form von Hefenkonidien bilden, deren zerfallene Glieder mit der Erschöpfung der Nährlösung sofort zu kräftigen langen Keimschläuchen auswachsen, die zum Eindringen in die Nährpflanze bestimmt sind. Die Keimdauer der Sporen erlischt nicht wie bei den anderen Formen nach Jahresfrist, sondern hält jahrelang an. Die Keim-

kraft verringert sich nicht. — Die Versuche ergaben: Blüteninfektion ist von geringer Bedeutung; die Infektion erfolgt zumeist an den Keimlingen in der Erde, da eben die Vermehrung und Verbreitung der Infektionskeime (Konidien) in der Erde auf saprophytischen Substanzen eine kolossale ist.

IV. **Mohrenhirse** (*Ustilago sorghi*), **Rispenhirse** (*Ustilago Panici miliacei*=*U. destruens*), und **Kolbenhirse** (*Ustilago Setariae*). Hier gilt bezüglich der Infektion das vom Hafer Gesagte.

V. **Mais** (*Ustilago Maydis*). Die Infektion kann an allen genug jungen Pflanzenteilen erfolgen, der Brand lokalisiert sich streng auf die infizierten Stellen. Die Infektion erfolgt durch Luftkonidien, die sich auf den Konidiensprossungen bilden; die Luft weht die Keime auf Maispflanzen. Die Branderscheinung tritt schon nach Ablauf von etwa 3 Wochen ein; eine lange Inkubationsdauer findet nicht statt. Wir haben es mit einer Blüteninfektion zu tun, die schon an den weiblichen Kolben sicher nachgewiesen werden kann.

VI. **Melandryum album** (Antherenbrand). Die Infektion und die Verbreitung erfolgt hier durch Insekten (Nachtschmetterlinge), welche die Bestäubung der Blüten vermitteln. Die am Rüssel klebenden Sporen werden auf die Narbe, Griffel und jungen Fruchtknoten benachbarter weiblicher Blüten übertragen. Das Narbensekret und der Blütennektar sind hier die saprophytischen Substrate, in welchen die Brandsporen keimen, ihre Keime vermehren, mit ihren Keimschläuchen durch den Griffelkanal vordringen und die jungen Samenanlagen erreichen. In dem Samen bleiben die Keime latent und entwickeln sich im nächsten Jahre mit dem Keimling weiter.

VII. **Wasserpflanzen**. Die Infektion an den Keimlingen des Saatgutes erfolgt in wässrigen Medien, die Infektionskeime von den austreibenden Brandsporen werden im Wasser verteilt und befallen die Keimlinge. Die Brandsporen erzeugen Hemibasidien, die Konidien bilden, welche wieder zu Hemibasidien auskeimen. Das schmutzige Wasser ist das saprophytische Substrat. Dies gilt z. B. für *Ustilago longissima* (auf *Poa aquatica*), für *Ustilago grandis* (auf *Phragmitis communis*).

Bei Formen von *Doassansia* (auf Blättern von *Alisma*, *Sagittaria* etc.) verhält es sich folgendermaßen: Die Sporenhaufen keimen im Wasser tilletiaförmig aus; die Konidien trennen sich aus den fadenförmigen sproßverbänden in einzelne Glieder, welche sich im Wasser verteilen und die Sprossung auch an der Oberfläche des Mediums fortsetzen können. Sie gelangen unvermeidlich auf die noch jugendlichen, unter Wasser befindlichen Blätter, dringen in diese ein und erzeugen später erst auf den ausgewachsenen Blättern die bleichen Stellen, welche die *Doassansialager* verraten.

Was sind also die Hauptresultate der vorliegenden äußerst wichtigen Arbeit?

A. Bei Formen der Gattung *Ustilago* entwickelt sich in der Zeit des parasitischen Lebens in den Nährpflanzen nur die Chlamydosporenfruchtform (typische Brandsporen); während der Dauer der saprophytischen Ernährung treten Konidienfruchtformen allein auf. Der strenge Wechsel in der Ausbildung der Fruchtformen, die also im Gegensatze zu den Uredineen nicht nach zwei verschiedenen Wirten, sondern nach saprophytischer und parasitischer Ernährung erfolgt, wird

bedingt durch den Einfluß, den hier einmal das lebendige, das andere Mal das tote Substrat auf die Entwicklung dieser Pilze ausübt.

B. Saprophytisch können die Ustilagineen leben nicht nur in Nährlösungen und Nährsubstraten, sondern auch besonders im gedüngten Boden, jedoch auch im schmutzigen Wasser und in Narbensekreten und im Nektar.

C. Nur die jüngsten Gewebeanlagen der Nährpflanzen werden von den Infektionskeimen angegriffen.

D. Es werden bei den Brandkrankheiten der Getreideformen die jungen Keimlinge und die Blüten infiziert; in einzelnen Fällen wirken beide Infektionsformen zugleich, oder bald nur die eine oder die andere vorherrschend.

E. Bemerkenswert ist besonders der Nachweis, daß im Samen die Infektionskeime latent bleiben, um erst nächstes Jahr zur weiteren Entwicklung zu gelangen. Beim Mais beträgt die Inkubationsdauer aber nur 3 Wochen.

F. Blüteninfektion durch den Wind findet vorherrschend, wenn nicht ganz ausschließlich, statt bei dem Weizen, der Gerste, dem Mais, durch Insekten bei *Melanthium*. Die Infektion an Keimlingen vorherrschend erfolgt bei Hafer, bei der Mohren-, Rispen- und Kolbenhirse.

Bei Wasserpflanzen kann auch die 3. Bestäubungsform, durch Wasser, eintreten. Diese auch bei *Phanerogamen* vorhandenen drei Infektionsformen sind für die Aetiologie der Brandkrankheiten bisher nicht beobachtet worden.

G. Selbst die spezifischsten aller Pilzparasiten, eben die Brandpilze, sind nur fakultative Parasiten. Der Parasitismus ist nur eine angepaßte Erscheinung.

Es ist begreiflich, daß bei einer so grundlegenden Arbeit die Verf. auf eine Menge von mehr weniger wichtigen Fragen stießen, die zu lösen ihnen wohl in Bälde gelingen wird. Außer den im Referate notierten kommen da besonders Blüteninfektionen mit Stinkbrand beim Weizen und mit Testabrand bei der Gerste in Betracht. Auch werden die Kulturversuche und Beobachtungen im Freien, soweit sie die in vorliegender Arbeit berücksichtigten Arten betreffen, fortgesetzt.

Im Anhang zur Arbeit befindet sich ein Kapitel, das die Ueberschrift: Zur Stickstoffassimilation trägt. Die epochemachenden Resultate Hellriegels legen die Frage nahe, ob außer den Rhizobien nicht auch andere parasitisch lebende Pilze in ihren Nährpflanzen die gleiche Assimilation des freien Stickstoffes veranlassen können. Die Verf. operierten mit sicher brandigen Versuchsobjekten (Hirsearten), d. h. mit Saatgut, welches nur brandige Pflanzen hervorbringen mußte. Ein Teil der Keimlinge erhielt Calciumnitrat, der zweite Teil nicht. Die letzteren blieben merklich im Wachstum zurück, ein Zeichen, daß die fadenförmigen parasitischen Pilze keine Assimilation des freien Stickstoffes herbeiführen. Die zur Blüte gelangenden Pflanzen waren wirklich brandig, wie vorauszusetzen war.

Daß die von den Pilzen befallenen Hirsearten sich schneller und üppiger entwickelten als die gesunden (mit denen Parallelkulturen gemacht wurden), muß andere nebenläufige Ursachen haben. Die Rhizobien allein sind es, die die Fähigkeit haben, die Assimilation des Stickstoffes in großem Maßstabe zu vermitteln, wenn sie an Leguminosenwurzeln parasitisch leben.

Matouschek (Reichenberg).

Magnus, Paul, *Sclerotinia Crataegi*. (Berichte der Deutschen botanischen Gesellschaft. Jahrg. 1905. Bd. XXIII. Heft 4. p. 197—202. Mit 1 Tafel.)

Genaue Beschreibung der *Monilia Crataegi* Diedicke. Die von diesem Pilze befallenen Blätter zeigen Flecken, die bei großer Ausdehnung sich nach unten einkrümmen, so daß sie konvex erscheinen. Die Flecken überziehen sich mit einem grauen Ueberzuge beiderseits; dabei tritt ein starker, mandelartiger Geruch auf, der wahrscheinlich Insekten anzieht. Die Konidien werden von diesen auf die Narben der Blüten übergeführt (ähnlich wie bei *Sclerotinia Vaccinii* Wor.). Die Keimung der Konidien und ihr Eindringen in den Griffel beobachtete H. Diedicke. Die Konidien sind $13,2 \mu$ lang und 11μ breit. Das Mycel wuchert ausschließlich im Fruchtfleische und dringt nicht in das eigentliche Fruchtknotenfach ein. Ein Sklerotialgewebe wird von dem in das Fruchtfleisch jüngerer Fruchtknoten eingedrungenen Mycel gebildet; es wuchert zwischen und in den Parenchymzellen. Aus den infizierten Früchten können an der Oberfläche Rasen von Konidienträgern hervorsprossen; sie sprengen die Cuticula oder die Epidermis ab. Jeder Konidienträger ist ein langer, unverzweigter Faden, der an der Spitze kugelige kleine Konidien ($3,6 \mu \times 3 \mu$) abschnürt. Durch die geringe Größe und die kettenweise Abschnürung von den unverzweigten Trägern schließen sich diese Konidien der Mikrosporenbildung an, die so häufig bei den Sklerotinen bei der Keimung der *Monilia*-Konidien und Askosporen auftritt. Zwischen den unverzweigten Konidien stehen verlängerte borstenförmig endende Hyphen. Aus den sklerotisierten Früchten keimen 1—4 Apothecien aus, die schwarzbraun oder heller gefärbt, außen kahl sind und einen verschieden langen Stiel haben. Ascus $170 \mu \times 10,5 \mu$, die Ascosporen $10,6 \mu \times 5,2 \mu$. Durch die an beiden Polen etwas zugespitzten Askosporen unterscheidet sich *Sclerotinia Crataegi* von den anderen auf Früchten von Pomaceen und Amygdaleen beobachteten Sklerotinen. Von *Sclerotinia fructigena* unterscheidet sich der besprochene Pilz durch die Lage der Ascosporen im Ascus, die geringe Größe der *Monilia*-Konidien, die Art seines Auftretens und die Bildung der Rasen der Mikrosporen abschnürenden Konidienträger auf den Früchten. — Die *Sclerotinia Crataegi* scheint weit verbreitet zu sein (Erfurt, Schlesien; Rhein?). Die eigentliche Monilienbildung ist auf das Frühlingsmycel der Blätter beschränkt, während das die Sklerotien in den Früchten bildende Mycel noch zahlreiche Rasen von Mikrokonidienträgern anlegt.

Matuschek (Reichenberg).

Spaulding Perley, A disease of black oaks caused by *Polyporus obtusus* Berk. (Missouri botanical garden. 16. annual report. St. Louis 1905. p. 109—116. Mit 7 Tafeln.)

In Missouri und nördl. Arkansas fand Verf. den genannten Pilz auf *Quercus marilandica* und *Q. velutina*. Er scheint auch in anderen Gebieten Nordamerikas die schwarzen Eichen zu befallen (z. B. *Q. coccinea*, *texana*); an den vom Verf. notierten Stellen befiel er aber nie die weißen Eichen. Das Verbreitungsgebiet der schwarzen Eichen (black oaks) und des Pilzes wird in eine Karte eingezeichnet. Der Pilz war sicher anfänglich Saprophyt; er ist jetzt gebunden an die Röhren und Löcher, welche von *Prionoxystus robiniae* Berk. hervorgebracht werden. Dieses Insekt befällt die weißen Eichen nicht.

Entlang der Röhren wächst das Mycel in das Innere des Stammes, ja bis in den Gipfel des Baumes. Die Bilder zeigen den erwachsenen Pilz in verschiedenen Stellungen und zerstörte Hölzer in Quer- und Längsschnitten.

Matouschek (Reichenberg).

Guénaux, G., Entomologie et parasitologie agricoles. (Biblioth. encyclop. agricole.) Paris 1905. p. 588. 390 Fig.)

Der Landwirt muß unbedingt imstande sein, den Kampf gegen die durch die Tiere verursachten Schäden zu führen; vor allem muß er jedoch die Tiere, welche ihm eventuell als Bundesgenossen in diesem Kampfe dienen können, von den schädlichen unterscheiden können. Das Werk des Verf.s entspricht diesem Zweck und behandelt besonders die den Getreidearten, den Futter- und Küchenpflanzen, dem Weinstock, den Obst- und Waldbäumen etc. schädlichen Insekten. Ein besonderes Kapitel ist den verschiedenen Bekämpfungsverfahren gewidmet.

Houard (Paris).

Houard, C., Sur l'accentuation des caractères alpins des feuilles dans les galls des Genévriers. (Comptes Rendus de l'Académie des sciences Paris. T. CXL. 1905. p. 56—58.)

Der Verf. untersucht zunächst 2 Gallen, welche von *Oligotrophus juniperinus* und einer *Oligotrophus* sp. auf der alpinen Varietät von *Juniperus communis* erzeugt werden. Die erstere hat die Form einer dicken Knospe, die andere modifiziert nur 2 Quirle von Nadeln. In beiden Fällen besitzen die chlorophyllhaltigen und löcherigen Parenchyme viele Zellen, die mit zahlreichen Reihen von Stomaten in Verbindung stehen. Der Sekretionsapparat entwickelt sich in denselben Verhältnissen und der Durchmesser des Sekretionskanales kann enorm werden (200 μ statt 60). Das Wachstum der Blätter in die Breite wird von der Ausbreitung des holzigen Bündels begleitet und besonders von der Entwicklung der Gefäßflügel: ihre Länge kann das Achtfache der gewöhnlichen Ausdehnung betragen und die Anzahl der Zellen kann 100 übersteigen (statt der gewöhnlichen 15). Die Schutzvorrichtung des anormalen Blattes ist gleichfalls verstärkt: die hypodermischen und pericyclischen Fasern sind gut entwickelt.

Zwei Cecidien von *Juniperus Sabina* haben die nämlichen Kennzeichen: abstehendes holziges Bündel und Gefäßflügel, welche die 7-fache Länge des Bündels erreichen können.

Fassen wir die Ergebnisse zusammen, so zeigt es sich, daß die hypertrophischen, die Cecidien darstellenden Blätter der Wacholdersträucher eine stärkere Entwicklung der normalen Assimilations- und Sekretionsapparate und eine Verstärkung der Stützvorrichtung, mithin stärker ausgesprochene alpine Merkmale aufweisen.

Houard (Paris).

Mollard, M., Une Coléopterocecide nouvelle sur *Salix caprea*, type de cécidies facultatives. (Revue générale de Botanique. Paris. T. XVI. 1904. p. 91—95. 3 Fig.)

Der Verf. hat diese sonderbare Cecidie Ende April 1901 auf den männlichen Kätzchen von *Salix caprea* angetroffen. Die Kätzchen erleiden eine beträchtliche Hypertrophie und bilden eine kugelige Masse von 2,5 cm Durchmesser, die aus dicken blattähnlichen Organen besteht, in welchen man leicht verwandelte Staubgefäße erkennt.

Die Achse der Galle rührt von der Achse des modifizierten Kätzchens

her: sie enthält einen breiten Gang, in dem eine Curculionidenlarve haußt, die sehr wahrscheinlich dem Genus *Dorytomus* angehört. Die von der Larve bewohnte Höhlung ist von einem Parenchym begrenzt, das sich infolge des inneren Wachstums der Zellen strahlenförmig teilt. Die Gefäßregion besteht aus holzigen Bündeln, die von einander isoliert sind.

Die modifizierten Staubblätter sind sehr interessant zu beobachten, denn in einem und demselben Kätzchen kann man alle Uebergänge zwischen den einfach verdickten Staubfäden und sehr ausgedehnten blattähnlichen Organen vorfinden. Im letzteren Falle hat das Organ zwei Hälften, die nach ihrem ursprünglichen Anlageplan miteinander vereinigt sind und die Form eines x aufweisen. Die Umwandlung des Staubblätter ist schon als eine Folge von Milbenparasiten oder in verschiedenen Fällen von Teratologie beobachtet worden. Die weniger von der Verwandlung betroffenen Antheren zeigen noch Pollensäcke auf, deren Wand von der Epidermis gebildet wird, sowie eine zweite Schicht welche sich nicht differenziert und deren Höhlung entartete Reproduktionszellen enthält. Bisweilen findet sich an Stelle der normalen Pollenmasse ein Bogen von Gefäßgewebe.

In den folgenden Jahren (1902 und 1903) hat der Verf. die nämliche Larve in der Axe der männlichen Kätzchen gefunden; aber ihr Vorhandensein war von keinerlei hypertrophischen Erscheinungen begleitet. Dieser Wechsel in der von der Larve ausgeübten Wirkung rührt vielleicht daher, daß das Kätzchen erst spät angegriffen wurde, zu einer Zeit, als seine differenzierten Gewebe nicht mehr fähig waren, auf den Reiz durch Hypertrophie zu reagieren. Houard (Paris).

Dewitz, J., Beobachtungen, die Biologie der Traubennotte *Cochylis ambiguella* Hübn. betreffend. (Zeitschrift für wissenschaftliche Insektenbiologie. Bd. I. [1. Folge. Bd. X.] Heft 5. p. 193—199; Heft 6. p. 237—247; Heft 7. p. 281—285; Heft 8. p. 338—347. Fig. 1—13 u. Taf. I. [Heft 5.] Husum 1905.)

Die dieser Arbeit zu Grunde liegenden eingehenden Untersuchungen wurden in der Station viticole et de Pathologie végétale zu Villefranche im französischen Departement Rhône ausgeführt. Sie sind gleich beachtenswert hinsichtlich der erzielten Resultate wie der angewandten exakten Methode. Die Raupe der ersten Generation ist auf die Blütenknospen und die Blüten angewiesen. Nach dem Ausschlüpfen aus dem an der Knospe oder in deren nächster Nähe abgelegten Ei dringt sie in der Regel seitlich nicht weit von der Basis der Knospe in diese ein und höhlt sie aus. Später greift sie eventuell auch bereits vorhandene Beeren an. Ihr Gespinst ist im wesentlichen dasselbe, wie das der zweiten Raupengeneration (vergl. weiter unten). An aufgeblühten Blütentrauben mit abgeworfenem Kelch benagen die Raupen die Blüten mit wenig Ausnahmen bei den Nektarien beginnend. Vielleicht werden sie, ebenso wie die Weibchen des Schmetterlings bei der Eiablage, von dem Duft der Nektarien in deren Nähe gelockt. Vielleicht liegt auch Kontaktreiz vor. Die Raupe der zweiten Generation dagegen nährt sich ausschließlich von erwachsenen oder halberwachsenen Beeren. Ihr Verhalten auf der Beerentraube wird besonders eingehend behandelt. Sie frißt nahe dem Stiele ein Loch in die Beere, durch das sie eindringt. Sie höhlt die Beere aus. An das Eingangsloch spinnt sie eine Gespinst-röhre an, die an ihrem Ende frei ausmündet. Die Höhlung der Beere

und dieser Gespinströhre bilden nun die Wohnung der Raupe, die sie offenbar nur des Nachts verläßt. An der freien Oeffnung der Gespinströhre sieht man die Exkrementhäufchen der Raupe: „Kotende“ der Gespinströhre im Gegensatz zum „Beerenende“. Vielfach begreift die Raupe noch eine weitere Beere mit in ihre Wohnung ein; dann gabelt sich das „Beerenende“ zu zwei Gängen, deren jeder sich an eine der ausgehöhlten Beeren anschließt. Ferner kann auch der Fall eintreten, daß sich das „Kotende“ der Gespinströhre gabelt, so daß alsdann zwei Ausgangsöffnungen entstehen. Die Raupe der ersten Generation, welche die Blütenknospe bewohnt, nagt, um sich zu verpuppen, die Achse der Blütentraube der Länge nach an und befestigt hier ihren Kokon. Die der zweiten Generation zieht sich unter die Borke des Weinstockes zurück, nagt die Fläche der Borke etwas aus; ihr Puppenkokon liegt also unter der Borke. Manchmal ist schwer an den Raupen oder Puppen zu entscheiden, ob es sich um *Cochylis ambiguella* oder die bekannte *Tortrix pilleriana* handelt. Man kann sie, wo andere Mittel versagen, unterscheiden an der Form und Anordnung der Exkremente, an dem mikroskopischen Bild der Gewebe von Gespinströhre und Puppenkokon, sowie an dem Hinterende der Puppe. Besonders die Gewebe von Gespinströhre und Puppenkokon werden eingehend beschrieben und in Mikrophotographien dargestellt. Gespinströhre sowohl wie Puppenkokon bestehen aus einer inneren Gewebeschicht und einer äußeren Schicht aufgetragener Fremdschicht, wie sie die Umgebung auf der Pflanze darbietet. Besonders groß ist die Menge der Fremdkörper auf den Gespinströhren der Raupen erster Generation: Knospen, Ovarien, Blütenhüllen, Staubgefäße und Stengel, unter denen die eigentliche Gewebsröhre ganz verschwindet. Ein Exkrementhäufchen, wie vor dem „Kotende“ der Raupengespinströhre zweiter Generation, wurde vor den Wohnungen der ersten Raupengeneration nicht beobachtet. Es wird die Widerstandsfähigkeit des Puppenkokons gegen verschiedene Flüssigkeiten geprüft. Die Raupe von *Cochylis ambiguella* liebt Feuchtigkeit und Kühle im Gegensatz zu der von *Tortrix pilleriana*, die Trockenheit und Wärme verlangt. Feuchte und kühle Sommer sind der ersteren, trockene und heitere der letzteren günstig. Erstere ist langsam und schleppend in ihren Bewegungen, letztere schnell und entschieden. Versuche mit erhöhter Temperatur ergaben, daß die *Cochylis*-Raupen bei 45° C starben. Begießen des Rebenholzes mit kochendem Wasser sehr bald nach der Traubenernte, wo die Raupe noch nicht verpuppt ist, verspricht daher guten Erfolg. Sehr wirksam sind die Angriffe eines in den Weinbergen offenbar reichlich vorhandenen Pilzes, *Isaria farinosa*, auf die Puppen.

Von anderen Nährpflanzen als Wein stellte Dewitz teils durch eigene Experimente, teils aus der bisherigen Litteratur noch 27 Pflanzen fest, also inkl. Rebe 28 bisher bekannte Nährpflanzen der *Cochylis ambiguella*. Bei den eigenen Experimenten fand er gleichzeitig in der größeren oder geringeren Menge der jedesmal abgelagerten Exkremente einen Gradmesser für die Beliebtheit der einzelnen Pflanze. Es sind besonders Pflanzen mit Neigung zur Trauben-, Köpfchen-, Doldenbildung u. dergl. Der Verf. hat sich ferner der Mühe unterzogen, aus der Litteratur die Genera der Nährpflanzen für die ganze Gattung *Cochylis* auszuziehen. Hier stellt sich heraus, daß sämtliche *Cochylis*-Arten, als Ganzes genommen, eine sehr entschiedene Vorliebe für die

Gruppe der *Aggregatae* haben: 78mal ein Genus der *Aggregaten* gegenüber von nur je 11mal aus den nächst beliebtesten *Labiati-florae* und *Umbelliflorae*. Hiernach ist die ursprüngliche Nährpflanze, oder sind die ursprünglichen Nährpflanzen mit Wahrscheinlichkeit unter den *Aggregatae* zu suchen. Ferner wurde die Frage aufgeworfen, durch welche Pflanzengenera die Rebe als Lepidopteren-Nährpflanze überhaupt vertreten wird. Auch hier überwogen die *Aggregatae* wieder bedeutend mit einer 32maligen Vertretung, während die unter den 24 in Frage kommenden Gruppen nächst beliebtesten *Labiati-florae* nur 17mal an die Stelle treten.

Eine solche Berücksichtigung der außer der befallenen Kulturpflanze in Frage kommenden Nährpflanzen ist von großem wirtschaftlichen und überhaupt biologischen Interesse. Rein praktisch schon aus dem einen Grunde, weil die Kenntnis möglichst vieler Nährpflanzen die Bekämpfung des Schädling's außerordentlich erleichtert. Die hier von Dewitz gebotene Uebersicht gibt wertvolle Winke, auf was für Pflanzen man jedesmal die meisten Chancen hat, Schädiger der Rebe im übrigen anzutreffen. Die engen Beziehungen zwischen Insekt und Pflanze drückt Dewitz sehr treffend in dem Satze aus: „Die einen Wesen sind sozusagen die Reagenzien für die anderen.“

Th. Kuhl g a t z (Berlin).

Nüsslin, Der Fichtenborkenkäfer, *Tomicus typographus* L., im Jahre 1905 in Herrenwies und Pfullendorf. (Naturwissenschaftliche Zeitschr. f. Land- und Forstwirtschaft. 1905. Heft 11 und 12.)

Verf. behandelt zunächst kurz die Gründe, aus denen sich einerseits 1905 für das Ueberhandnehmen der forstschädlichen Borkenkäfer sehr günstige Bedingungen boten, andererseits aber bei zweckmäßigem Arbeiten der Forstleute doch wieder die drohende Gefahr rechtzeitig bekämpfen ließ. Als Belege werden die Forstbezirke Herrenwies und Pfullendorf herangezogen. Nachdem Verf. noch der zwischen ihm und Knoche bestehenden Meinungsverschiedenheit bezüglich der Borkenkäfer und ihrer Generationen verschiedene Ausführungen gewidmet hat (vergl. Knoche, Zur Generationsfrage der Borkenkäfer. Referat. p. 658. Bd. XV. dieser Zeitschrift), wendet er sich zu seinen neuen Beobachtungen in den beiden vorbenannten Forstrevieren. Von ihnen ist besonders hervorzuheben:

1) Bei *Typographus* kommt der Fortpflanzungstätigkeit der Saisonmutterkäfer für die Spätbruten keine besondere Bedeutung zu, die zweite Generation ist in der Hauptsache auf Konto der Saisonjungkäfer zu setzen. Dafür, daß die ausfliegenden *Typographus*-Jungkäfer als fortpflanzungsbereit aufgefaßt werden können, werden verschiedene Beobachtungen angeführt.

2) Die zur Fortpflanzungsbereitschaft nötige Zeit der Ausdunkelung, Aushärtung und Geschlechtsreife beträgt etwa 20 Tage für die erste 1905er *Typographus*generation, dauert dagegen unter weniger günstigen Verhältnissen bedeutend länger. Vor allem entscheiden Witterung und Klima die Generationsfrage für *Typographus*, und bei günstiger Einwirkung dieser Faktoren reihen sich in der Tat bei *Typographus* Generation auf Generation aneinander.

3) Es ist besonders die Besonnung der Rinde, welche die Jungkäfer aus ihren Lagern hervortreibt.

4) Die Ansicht, daß von Anfang Juni bis in den Juli, und dann wieder von Mitte August bis zum Ende der Saison nur verzettelte, wirtschaftlich bedeutungslose Parteen zum Schwärmen gelangen, ist unrichtig.

Verf. kennzeichnet dann die Mittel zur Erkennung der vom Käfer befallenen Stämme. Das Wichtigste von ihnen, Ansammlung von Bohrmehl, verrät in den ersten vier Wochen nach dem Erstbefall den erkrankten Stamm mit Sicherheit, falls auch nur einige Zeit trockenes Wetter herrscht. Scharfe Aufmerksamkeit hierauf ist also von Mai bis Ende September unerlässlich. Die Feststellung des Befalls im Anschluß an die Beobachtung von Bohrmehl hat, im Gegensatz zum diesbezüglichen Augenmerk auf das Rotwerden der Krone, den Vorteil für sich, daß sie ein rechtzeitiges Eingreifen vor Ausflug der Jungkäfer ermöglicht. Neben Bohrmehl und Rotwerden der Krone sind noch Kennzeichen des Befalls ein Abfallen der Rinde, und endlich das Ausfließen von Harz in eigenartiger Weise.

Verf. geht dann noch auf die Ursache der Borkenkäferkalamität in Pfullendorf und ihre Abwehr ein. Dabei wird hervorgehoben, daß „in einer normalen Saison zwei Generationen innerhalb Jahresfrist von Mai zu Mai das Normale bedeuten.“

Bezüglich der Vertilgung ist vor allem das Fällen der befallenen Hölzer schon etwa 5 Wochen nach Befall dringend zu empfehlen.

Ehrenberg (Breslau).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Brazzola, Floriano, Significato dei batteri termofili, di quelli della putrefazione e del gruppo coli, nell' esame batteriologico delle acque.

Ueber den Wert der bakteriologischen Analyse im Allgemeinen zur Bestimmung der Trinkbarkeit und der Verunreinigung eines Wassers sind die Autoren bis heute noch nicht einig, was auch der letzte Internationale Kongreß für Hygiene in Brüssel von neuem bewiesen hat.

Einige Forscher legen der bakteriologischen Prüfung eine absolute Bedeutung bei, andere wiederum behaupten, daß der Wert eines Wassers nicht auf Grund der Anzahl und der Art der vorhandenen Keime beurteilt werden kann.

Diese Ansichtsverschiedenheit hängt von der Mannigfaltigkeit der hierzu in Anwendung kommenden technischen Apparate ab und von der verschiedenen Bedeutung, die man einigen Keimarten beilegt, besonders den thermophilen Keimen, den gewöhnlichen Fäulnisregern und der Coli-Gruppe.

Petruschky und Pensch haben sich kürzlich wieder eingehend mit den in Frage stehenden Mikroben beschäftigt und damit auch bei vielen anderen Autoren, darunter auch Vincent, Anklang gefunden.

Da nun Verf. sich schon seit langer Zeit mit dieser Frage abgegeben hat, so war es ihm ein Leichtes, eine Reihe vergleichender analytischer Beobachtungen anzustellen, zu denen er sich der gewöhnlichen Methoden mit Gelatine- und Plattenkulturen bediente und auch direkt der Erkennung der thermophilen Keime, der Fäulnisbakterien und der Coli-Gruppe zu Leibe ging.

Die Analysen wurden mit Hilfe der besten Untersuchungsmethoden ausgeführt.

Verf. kommt dann zu folgenden Schlüssen:

Die mit den einfachen, gewöhnlichen Methoden der Keimzählung in Gelatinekapseln oder Gelatine- und Agargemischen ausgeführten bakteriologischen Analysen sind unzureichend und oft fehlerhaft.

Das Aufsuchen der thermophilen Keime im allgemeinen ist äußerst wichtig und liefert uns schon einen wertvollen Fingerzeig zur Beurteilung der mehr oder weniger guten Beschaffenheit eines Wassers, doch darf man sich nicht mit der allgemeinen Untersuchung mittels Kulturen auf 38° und mehr begnügen, sondern es muß der Titre, der relative und absolute Gehalt bestimmt, und eventuell das pathogene Vermögen erprobt werden.

Zusammen mit der Untersuchung auf thermophile Keime muß auch die auf gewöhnliche Fäulnisorganismen bei einer Temperatur von 18—25° und die auf Keime der Ammoniak Gärung angestellt werden. Auch bei dieser Gruppe von Mikroorganismen müssen Titre und eventuell biologische Kennzeichen festgestellt werden.

Diese Mikroorganismen sind ebenfalls eine wertvolle Grundlage zur Beurteilung der mehr oder weniger vorhandenen Trinkbarkeit des Wassers.

Einer der besten Fingerzeige ist die Coli-Gruppe. Sind diese Keime auch nur ein wenig zahlreich in einem Wasser vertreten, so genügt dies für eine eingetretene Verunreinigung.

Das Bacterium coli lebt im Wasser nur relativ kurze Zeit und ist so also auch ein Beweis für eine kurz vorher erfolgte und noch dauernde Verunreinigung.

Bertarelli (Turin).

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Bokorny, Th., Beobachtungen über die Giftmengen, welche zur Tötung einer bestimmten Menge lebender Substanz nötig ist. (Pharmaz. Centralhalle. 1905. p. 7—10.)

Hierüber liegen bis jetzt wenige brauchbare Angaben vor.

Die „letale“ Dosis Gift ist wohl bei Tieren bis jetzt beobachtet worden. Dort spielen aber so viele Nebenumstände mit, daß diese Feststellungen nicht als quantitative in dem oben angegebenen Sinne angesehen werden können.

Was heißt es z. B., daß bei einem Kaninchen die tödliche Menge Formaldehyd 0,24 g für 1 kg Körpergewicht betrage; oder daß Kaninchen durch 0,015 g Sublimat getötet werden?

Bei solchen Tieren brauchen nur einzelne Gewebepartien durch das Gift getötet oder auch nur vorübergehend funktionsunfähig zu werden, um dann den Tod des ganzen Tieres herbeizuführen. Wird z. B. das Atmungszentrum, wie durch Blausäure, gelähmt, so tritt Erstickung des Tieres ein.

Zu den quantitativen Versuchen über Giftwirkung müssen niedere Pflanzen und Tiere genommen werden, welche aus lauter gleichartigen Zellen bestehen, so daß das Gift auf das ganze Material gleichartig wirkt; z. B. Hefe, einzellige Algen, Diatomeen, Spaltpilze, Spaltalgen etc.

Bezüglich der Methode, welche hier eingehalten werden muß, sei bemerkt, daß stets zuerst die Verdünnung festzustellen ist,

bei welcher das betreffende Gift noch tödlich wirkt, denn sonst findet man keine Grenze hinsichtlich der noch tödlichen Giftmengen. So kann man z. B. die Hefe durch 1-proz. Milchsäure töten, nicht aber durch 0,1-proz. Von letzterer würde also keine noch so große Menge genügen, um auch nur 1 g Hefe abzutöten.

Offenbar beruht das darauf, daß die Tötung durch chemische Bindung des Giftes im Plasmaeiweiß erfolgt; erst wenn eine gewisse Menge Plasmaeiweiß in chemische Verbindung mit dem Gift übergetreten ist, tritt der Tod der Zelle ein. Nun gibt es hier natürlich ebenso eine Verdünnungsgrenze wie bei jeder anderen chemischen Reaktion; die chemischen Vorgänge setzen nicht mehr ein, wenn eine gewisse Verdünnung überschritten ist.

Die obere Grenze der Reaktionsfähigkeit ist ja bei rein chemischen Reaktionen sehr verschieden; bei physiologischen Vorgängen, welche nicht Reizwirkungen, sondern direkte chemische Wirkungen sind, muß es ähnlich sein.

Sie sind in beiden Fällen von der Natur des Reagens sowohl als von der des reagierenden Körpers abhängig.

Alkalische Silberlösung wird (nach O. Loew) von Pyrogallol, Gallussäure, Gerbsäure noch reduziert, wenn sie 0,0001 Proz. Silbernitrat enthält, nicht mehr, wenn sie 0,00001 Proz. enthält; ameisensaure Salze aber vermögen die alkalische Silberlösung schon dann nicht mehr zu reduzieren, wenn sie 0,1 Proz. Silbernitrat enthält, dagegen aber noch bei 1 Proz. Gehalt. Alkalische Osmium- und Palladiumlösungen geben selbst bei 1 Proz. Metallgehalt mit Aethylaldehyd bei gewöhnlicher Temperatur nur sehr allmählich eine Metallabscheidung, und bei der zehnfachen Verdünnung erfolgt dieselbe sogar beim Erwärmen auffallend langsam. Die äußerst schwache, nur unter Mithilfe von Wärme zu erreichende Endreaktion liegt etwa bei einem Verhältnis von 1 Teil Metall auf 12000 Teile Wasser. Aehnlich sind die Verhältnisse beim Platin. Eine momentane, fast blitzschnelle Wirkung üben aber alkalische Quecksilber-, Silber- und Goldlösung schon bei gewöhnlicher Temperatur. Doch während beim Quecksilber die Reaktionsgrenze schon bei etwa 0,002 Proz. Metallgehalt erreicht wird, reagieren Silber- und Goldlösung noch bei dem Hundertfachen dieser Verdünnung u. s. w.

Ganz ähnliche Differenzen beobachtet man auch bei der Einwirkung von Giften auf das Plasmaeiweiß; die einen wirken augenblicklich und noch bei sehr großer Verdünnung, die anderen langsam und erst in größerer Konzentration. Im übrigen ist es selbstverständlich, daß ein und dasselbe Gift bei stärkerer Konzentration rascher töten wird als bei sehr geringer, da ja aus sehr stark verdünnten Lösungen das Gift erst aufgesammelt werden muß.

Es wird auch ein Unterschied zu machen sein, je nachdem das Gift auf diese oder jene Art Plasmaeiweiß einwirkt; die noch wirksamen Verdünnungsgrade schwanken außerordentlich stark.

Mit Spirogyrenplasma, speziell mit den Chlorophyllkörpern derselben, reagiert Sublimat noch bei Verdünnung 1:10000000, ja sogar bei 1:100000000, nur muß man dann mehrere Tage bis zum Eintritt der Reaktion warten.

Die letale Dosis wurde vom Verf. zumeist an Hefe ausprobiert, da dieselbe jederzeit in beliebiger Menge frisch zu haben ist und bei Gebrauch der gleichen Bezugsquelle (Brauerei) eine gewisse Gleichmäßigkeit garantiert ist.

Sie wurde z. B.

| | | |
|-----------------------|---------------------|---------------------------|
| für 10 g Preßhefe und | Sublimat | zu 0,005—0,01 g gefunden. |
| " " " " | " Silberrnitrat | " 0,01—0,02 " " |
| " " " " | " Kupfervitriol | " 0,001—0,0025 " " |
| " " " " | " Kaliumpermanganat | " 0,05—0,2 " " |

Autoreferat.

Bokorny, Th., Quantitative Wirkung der Gifte. (Pflügers Arch. der ges. Physiologie. 1906. Ende März.)

Die Versuche über die Menge Gift, welche zur Abtötung einer bestimmten Quantität lebender Pflanzen nötig sei, wurden vom Verf. meist an Hefe ausgeführt, welche ja einen einzelligen Organismus darstellt. Eine gegebene Menge Hefe besteht aus lauter gleichartigen Zellen und stellt somit ein günstiges Versuchsobjekt dar.

Die Frage wurde in der Regel so gestellt: Wieviel Gramm Gift sind nötig, um 10 g frische Preßhefe zu töten?

Die Abtötung wurde daran erkannt, daß eine unter den nötigen Kautelen herausgenommene Probe keine Vermehrungsfähigkeit mehr zeigte.

Zunächst mußte aber die noch wirksame Konzentration bekannt sein, denn bei zu großer Verdünnung des Giftes sind schließlich beliebig große absolute Mengen desselben nicht mehr im stande, die Abtötung zu bewirken.

Die Anführung eines Beispielles, etwa der Versuche mit Schwefelsäure, wird am besten zeigen, wie die Versuche durchgeführt wurden. „Schwefelsäure ist eine der kräftigsten Mineralsäuren.

Bei welcher Verdünnung vermag sie Hefe zu töten?

Um das zunächst zu entscheiden, wurden je 50 ccm Gär- und Nährlösung mit 0,05-proz., 0,1-proz., 0,5-proz. und 1-proz. Schwefelsäure versetzt, dann mit Spur (Platinöse voll Hefeflüssigkeit, d. h. in Gär- und Nährlösung verteilter Hefe) geimpft; die Hefe war so wenig, daß sie keine Trübung hervorrief. Ein Kontrollversuch (ohne Säurezusatz) wurde ebenfalls aufgestellt. Nach 24-stündigem Aufenthalt der Versuche im Brütöfen (bei 25—30° C) zeigte sich nur beim Kontrollversuch und dem Versuch mit 0,05-proz. Schwefelsäure eine Vermehrung; es bildete sich ein eben merklicher Hefeabsatz; unter dem Mikroskop waren viele Sproßverbände in der Flüssigkeit auffindbar. Somit war die Hefe bei Gegenwart schon von 0,1-proz. Schwefelsäure nicht vermehrungsfähig, bei 0,5-proz. und 1-proz. natürlich erst recht nicht. Daß sie in allen diesen drei Fällen auch wirklich abgetötet war, ist ja nicht ohne weiteres zu schließen; möglich, daß die Anwesenheit von 0,1-proz. Schwefelsäure bloß den Vermehrungs- (Sprossungs-)Vorgang unterdrückt. Allein, da wir nach den sonstigen an Giften gemachten Beobachtungen wohl annehmen dürfen, daß auch die Schwefelsäure, wenn sie überhaupt bei einer gegebenen Verdünnung noch schädlich wirkt, dies durch chemische Verbindung mit dem Plasmaeiweiß tut, so müssen wir wohl glauben, daß die wenigen eingesetzten Hefezellen aus der relativ großen Menge Flüssigkeit allmählich so viel Schwefelsäure in sich aufgenommen haben, daß der Tod eintrat.

Die folgenden Versuche, die teils mit 0,1-proz., teils mit 0,5-proz. Schwefelsäure angestellt wurden, indem die Hefe zuerst 24 Stunden in dieser Säure lag, dann herausgenommen und in viel Gär- und Nährlösung gebracht wurde, bestätigen die Richtigkeit dieser Auffassung, denn in einem Falle zeigte sich auch bei 0,1-proz. Säure schon eine völlige Abtötung der Hefe.

Tabellarische Uebersicht der letalen Dosen Gift und der Grenzen wirksamer Verdünnung. (Die betreffenden Zahlen zum Teil in Plügers Arch., zum Teil im Ph. C. H. oder in A. Br. und H.-Ztg. zuerst publiziert.)

| Name des Giftes | Letale Dosis für 10 g Hefe (ev. 10 g Algen, wenn eigens angegeben) | Grenze der wirksamen Verdünnung |
|--|---|---|
| Schwefelsäure H_2SO_4 | 0,025—0,05 g | 0,1 Proz. tötet Algen und Infusorien fast augenblicklich, 0,01 Proz. tötet weder Algen noch niedere Tiere (Infusorien etc.). Für Hefe ist 0,5 Proz. tödlich, 0,1 Proz. auch noch, wenn in genügender Menge angewendet, 0,01 Proz. nicht mehr. |
| Schweflige Säure SO_2 | 0,05—0,1 g | Nach Linossier werden Sproß- und Schimmelpilze durch 0,125-proz. schweflige Säure binnen 15 Minuten und durch 0,01 Proz. binnen 24 Stunden getötet, während Schwefelsäure bei letzterer Verdünnung nicht schadet. Nach Buchholz wirkt sie auf Fäulnisbakterien 16mal stärker als Karbolsäure. |
| Flußsäure HF | 0,01—0,025 g | Tuberkelbacillen werden durch 0,07 Proz. getötet. Nach Effront wirkt Flußsäure 20mal stärker als Salzsäure auf Hefe ein. |
| Fluornatrium NaF | 0,05—0,1 g | 0,001 Proz. soll der Gærtätigkeit der Milchsäurebacillen entgegenwirken; 0,01 Proz. wirkt nach O. Loew, ferner Tappeiner, fäulniswidrig; noch bei großer Verdünnung soll es nach Effront hemmend auf niedere Pilze wirken. |
| Salzsäure HCl | 0,05—0,1 g | 0,01 Proz. tötet Paramäcien binnen wenigen Minuten, sogar 0,001 Proz. ist für sie noch tödlich. Milzbrandbacillen ertragen nach D y r m o n t 1-proz. Salzsäure; der Cholera bacillus ist aber gegen 0,1 Proz. empfindlich. |
| Chlor Cl | 0,015—0,03 g | 0,01 Proz. tötet Algen und Infusorien binnen 1 Stunde, 0,005 oder 0,002 oder 0,001 Proz. binnen 24 Stunden. Brom ist etwas weniger energisch. Jod ist fast so giftig wie Chlor. |
| Natriumhydroxyd $NaOH$ | 0,05—0,1 g | In 0,1 Proz. Lauge sterben Infusorien rasch ab, in 0,01 Proz. auch binnen längerer Zeit nicht. Hefe stirbt in 0,1 Proz. ab. |
| Salzsaures Hydroxylamin NH_2OH, HCl | 1 g reicht nicht für 10 g Hefe (das Salz wird nicht gespalten?) | Mais- und Helianthuskeimlinge werden durch 0,01 Proz. getötet (O. Loew). 0,005 Proz. tötet Infusorien. 0,01 bis 0,001 Proz. tötet Diatomeen. Fäulnispilze wachsen nicht bei Gegenwart von 0,01 Proz. |
| Kaliumchlorat $KClO_3$ | 1 g genügt nicht (ist für Hefe wohl überhaupt nicht giftig, weil nicht mit ihrem Plasmaeiweiß reaktionsfähig?) | 0,01 Proz. macht Buchweizenkeimlinge binnen 3 Wochen unter Erbleichen absterben; Spirogyren sterben nach 3 Tagen. Aërobe Pilze ertragen nach Bin z bis 3 Proz. Hefe wird durch 1-proz. Lösung nicht getötet(?); Schimmel durch 7 Proz. nicht (Massen). |
| Uebermangansaures Kali $KMnO_4$ | 0,02—0,05 g ist tödlich für 10 g Hefe | Infusorien werden durch 0,005 Proz. noch abgetötet, durch 0,002 Proz. nicht mehr; Algen sterben durch 0,002 Proz., nicht durch 0,001 Proz. |
| Wasserrstoffsuperoxyd H_2O_2 | Die Abtötung der Hefe gelingt nicht, weil sich das H_2O_2 sofort an der Oberfläche der Hefezellen unter Schäumen zersetzt | 0,01 Proz. tötet Infusorien binnen 15—30 Minuten (P a n c t h); 0,005 Proz. ist nicht für alle Individuen tödlich. Vicia (Wicke) und Trianea ertragen 0,1 Proz. einige Zeit. |

| Name des Giftes | Letale Dosis für 10 g Hefe (ev. 10 g Algen, wenn eigens angegeben) | Grenze der wirksamen Verdünnung |
|--|--|--|
| Eisenvitriol $\text{FeSO}_4 + 7\text{H}_2\text{O}$ | 0,05 g genügen für 10 g Hefe | 0,1 Proz. hindert die Fäulnis, 0,2 Proz. nicht. Algen werden durch 0,1 Proz. binnen 24 Stunden teilweise getötet; Blütenpflanzen bleiben 4 Wochen lang am Leben. |
| Kobaltnitrat $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 + 6\text{H}_2\text{O}$ | 0,25—0,3 g reicht aus | Infusorien werden durch 0,1-proz. Kobaltnitratlösung nicht augenblicklich, sondern binnen 1 Stunde getötet; 0,01 Proz. schadet nicht. |
| Nickelsulfat NiSO_4 | 0,2 g reicht nicht | In 0,1-proz. Nickelsulfatlösung sterben Infusorien nicht augenblicklich, aber binnen 24 Stunden ab; 0,01 Proz. tötet binnen 24 Stunden, sogar 0,001 Proz. tut dasselbe, 0,0001 Proz. ist unschädlich. |
| Zinkvitriol $\text{ZnSO}_4 + 7\text{H}_2\text{O}$ | 0,05—0,1 g reicht aus | 0,001 Proz. tötet Infusorien binnen 3 Tagen; 0,01 Proz. binnen 24 Stunden; 0,1 Proz. nicht augenblicklich. |
| Manganvitriol | 0,4 g reicht nicht aus (reagiert vielleicht gar nicht mit Hefeplasma?) | 0,1-proz. Lösung wird von Infusorien ohne Schaden 24 Stunden ertragen; 1-proz. Lösung tötet sie erst binnen 24 Stunden und zwar nur die weniger resistenten Individuen. Hefe ist nach Maercker gegen Mangan ziemlich unempfindlich. |
| Bleizucker | 0,05—0,1 g reicht aus | In 0,1-proz. Lösung sterben Infusorien nicht gleich, sondern binnen 10 Minuten; in 0,01-proz. Lösung bleiben sie 24 Stunden lang unverändert, auch Algen sterben darin nicht ab (Spirogyren aber binnen vier Tagen in 0,001 Proz. etwas verändert, 0,0001 völlig wirkungslos). |
| Kupfervitriol $\text{CuSO}_4 + 5\text{H}_2\text{O}$ | 0,001—0,0025 g reicht aus für 10 g Hefe | 0,1 Proz. tötet Infusorien augenblicklich; in 0,01 Proz. leben nur resistere Individuen wenige Minuten weiter. Algen sterben in 0,002 Proz. binnen 2 Tagen. Spirogyren durch 0,000001 Proz. binnen 24 Stunden geschädigt. |
| Sublimat HgCl_2 | 0,005—0,01 g total für 10 g Hefe; 0,0005—0,00005 g für 10 g Algen (feucht gewogen) | 0,0003 Proz. hindert die Auskeimung der Milzbrandsporen (R. Koch). Spirogyren werden noch durch Lösung 1:100 Millionen (wenn in genügend Quantität lange genug angewendet) geschädigt. |
| Silbernitrat (Höllenstein) AgNO_3 | 0,01—0,02 g reicht für 10 g Hefe | In 0,001-proz. Lösung sterben Infusorien ab. 0,0002 Proz. hindert die Fäulnis. |
| Formaldehyd CH_2O | 0,025—0,05 g reicht für 10 g Hefe | 0,1 Proz. ist sogleich tödlich für Infusorien (Paramaecium); 0,01 Proz. binnen 5—10 Minuten; 0,001 Proz. läßt sie binnen 3 Tagen unverändert; Fäulnisbakterien werden noch durch 0,002 Proz. an der Entwicklung verhindert. Hefe wird durch 0,1 Proz. getötet. |
| Blausäure HCN | Für 10 g Conferven 0,4 g wasserfreie Blausäure ausreichend, 0,2 g noch nicht. Bei Hefe wäre wohl das Zehnfache nötig | 1 Proz. tödlich für Paramäcien, 0,1 Proz. selbst binnen 4 Tagen nicht. Conferven werden durch 0,1 Proz. nicht getötet, wohl aber durch 0,1 Proz. |
| Buttersäure | 0,05—0,1 g | Nach Maercker (Zeitschr. Spir.-Ind. 1881. No. 7) stört Buttersäure schon von 0,05 Proz. an die Gärung in gärender Melasse (von Ameisensäure 0,2 Proz., von Propionsäure 0,1 Proz., von Capronsäure kaum bestimmbare Spuren). |

| Name des Giftes | Letale Dosis für 10 g Hefe (ev. 10 g Algen, wenn eigens angegeben.) | Grenze der wirksamen Verdünnung |
|--------------------------------|--|--|
| Strychninnitrat | 1 g reicht nicht für 10 g Hefe. Salz von Hefe nicht gespalten? Um 10 g Algen zu töten, reicht 0,1 g aber nicht 0,025 g | 1 Proz. tötet Infusorien binnen einigen Minuten, 0,1 Proz. erst binnen 10 Minuten, 0,01 Proz. binnen 12 Stunden. Zygnema kann durch 0,05 Proz. getötet werden. |
| Hydrochinon | 1 g reicht nicht | 0,1 Proz. tötet Hefen, Algen sterben in 0,1 Proz. binnen 24 Stunden ab, in 0,01 Proz. binnen 3 Tagen. |
| Brenzkatechin | Letale Dosis für 10 g Hefe 0,5—1 g | |
| Gewöhnliche Gerbsäure (Tannin) | Letale Dosis für 10 g Hefe 0,5—1 g | 1 Proz. Tannin tötet Infusorien augenblicklich; das Absterben erfolgt unter körniger Trübung durch Bildung einer unlöslichen Gerbstoffeweißverbindung; 0,1 Proz. tötet binnen wenigen Minuten ausgewachsene Infusorien (junge nicht); 0,01 Proz. schadet nicht. Katechugerbsäure und Moringerberbsäure verhalten sich ähnlich. |
| Pyrogallol | Weniger als 0,5 g reicht aus für 10 g Hefe | 0,1 Proz. tötet Hefe. |
| Methylviolett | 0,20—0,25 g tötet 10 g Hefe | 0,1 Proz. tötet Infusorien rasch unter starker Färbung des Infusorienleibes; 0,01 Proz. ebenfalls. In 0,001 Proz. werden die Infusorien allmählich gefärbt, dabei sterben sie ab, nach 12 Stunden kein lebendes Infusorium mehr. Hefe wird durch 0,1—1 Proz. getötet. |
| Milchsäure | 0,5 g reicht nicht, um 10 g Hefe abzutöten | Nach Maercker beeinflusst 0,5 Proz. die Hefevermehrung günstig; 1 Proz. schadet nicht, 3,5 Proz. sistiert die Vermehrung ganz. |

Zur Feststellung der quantitativen Giftwirkung wurden je 10 g Preßhefe mit a) 10 ccm einer 0,5-proz. Schwefelsäure, b) 25 ccm einer 0,5-proz. Schwefelsäure, c) 50 ccm einer 0,5-proz. Schwefelsäure, d) 100 ccm einer 0,5-proz. Schwefelsäure, e) 5 ccm einer 0,5-proz. Schwefelsäure, f) 25 ccm einer 0,5-proz. Schwefelsäure, g) 50 ccm einer 0,1-proz. Schwefelsäure vermischt und 24 Stunden in einer flachen Schale stehen gelassen. Nach Ablauf dieser Frist wurden starke Proben herausgenommen und mit Gär- und Nährlösung angerührt. Von diesen Flüssigkeiten wurden dann Platinösenproben entnommen und in je 50 ccm einer gut sterilisierten Gär- und Nährlösung gebracht, dann die Versuche 24 Stunden im Brütoven bei 26—30° C stehen gelassen.

Es zeigte sich Hefevermehrung nur im Versuch e und f. Die letale Dosis Schwefelsäure für 10 g Preßhefe liegt also zwischen 0,025 und 0,05 g.“

Die letalen Dosen Gift für 10 g Hefe sind verschieden bei den einzelnen Giften.

Doch kann man sich beim Vergleich (siehe vorstehende Tabelle) des Gedankens nicht erwehren, daß, von extremen Ausnahmefällen abgesehen, eine ziemliche Gleichmäßigkeit herrscht.

Jedenfalls sind die Unterschiede bei den wirksamen Verdünnungsgraden weit größer.

Autoreferat.

Huntemüller, O., Vernichtung der Bakterien im Wasser durch Protozoen. (Archiv für Hygiene. Bd. LIV. Heft 2. p. 89.)

W. Hoffmann hatte (Arch. f. H. Bd. LII. p. 208) die Beobachtung gemacht, daß Typhusbacillen, in Aquariumwasser ausgesät, eine rasche Abnahme erfahren. Innerhalb dreimal 24 Stunden war der Keimgehalt pro ccm von über 300000 auf 50 gesunken. Aehnliche Ergebnisse erhielten Emmerich und Gmünd bei reichlicher Aussaat von Typhusbacillen in Mangfall-Leitungswasser. Bereits in wenigen Tagen konnten durch die Kultur infektiöse Keime nicht mehr nachgewiesen werden, während in Kontrollversuchen mit sterilem Wasser dieser Nachweis noch längere Zeit gelang.

Chemische Unterschiede des sterilen Wassers konnten als ursächliches Moment kaum in Betracht kommen und ebensowenig konnte den sehr spärlichen saprophytischen Keimen des nichtsterilisierten Wassers ein irgendwie entscheidender Einfluß zugesprochen werden. Dagegen fanden sich sehr zahlreiche Protozoen im nichtsterilisierten Wasser, in deren Körper Emmerich Bakterien nachzuweisen vermochte, so daß die Vermutung einer tätigen Mitwirkung dieser Lebewesen zum festgestellten Erfolge nahegelegt wurde.

Für diese Vermutung konnte Verf. in einer Reihe kultureller und mikroskopischer Versuche die Bestätigung erbringen. Als wirkend wurden in den geprüften Wässern besonders 2 Flagellaten *Bodo ovatus* und *Bodo saltans* gefunden.

Waren in einem Wasser schon an und für sich viele Flagellaten enthalten, so ließ sich bereits nach einer Stunde eine deutliche Abnahme der eingesäten Typhusbacillen konstatieren, während ihre Zahl in sterilem Wasser sogar ein wenig zugenommen hatte. Nach 2—3mal 24 Stunden waren unter bedeutender Zunahme der Flagellaten die Typhusbacillen aus dem Wasser nahezu verschwunden, wenigstens konnten sie durch das gewöhnliche Gelatineplattenverfahren nur selten nachgewiesen werden. Ein völliges Absterben fand nicht immer statt, in einigen Versuchen ließen sich noch nach 6 Tagen spärliche verdächtige Kolonien auffinden, die auf Bouillon weitergeimpft und durch die Agglutination als Typhus erkannt werden konnten.

In einigen Fällen ließ sich die Beobachtung machen, daß, während die Bakterienabnahme in der ersten Stunde sehr beträchtlich war, sie in der zweiten Stunde nur geringen Fortschritt zeigte; ja sogar eine leichte Vermehrung kam unter Umständen zur Beobachtung. Nach Ansicht des Verf. erklärt sich diese Erscheinung als Verdauungspause der vollgefressenen Protozoen.

Eine gewisse Bedeutung scheint der Temperatur zuzukommen, wahrscheinlich darauf beruhend, daß das Optimum für die Entwicklung und Freistätigkeit der Bakterien bei 26—30° gelegen ist.

Die mikroskopische Beobachtung wurde unter einem mit Wachsfußchen gestützten Deckgläschen vorgenommen. Die Bakterien wurden zur besseren Sichtbarmachung in vivo mit starker wässriger, leicht angewärmter Methylenblaulösung gefärbt. Das gefärbte Material wurde successive in klare Wassertropfen übertragen und aus dem letzten, der sich nur schwach blau färben durfte, dem protozoenhaltigen Wasser zugesetzt.

Verf. konnte die Aufnahme der Bakterien in noch lebendem Zustande sowie ihren allmählichen Zerfall im Flagellatenkörper beobachten.

Auf Grund dieser Untersuchungen und Befunde hält er den Beweis

für erbracht, daß die Vernichtung der Typhusbacillen im Wasser auf Protozoentätigkeit zurückzuführen ist. Gegen die gewöhnliche Annahme, die der Konkurrenz der überwuchernden Wasserbakterien eine entscheidende Rolle zuschreibt, spricht die Tatsache, daß auch diese Keime — wie die Versuche von Hoffmann und Verf. ergaben — einen erheblichen Rückgang erfahren.

Ob allerdings die gewonnenen Resultate ohne weiteres einen Schluß auf die Verhältnisse in der freien Natur gestatten können, möchte Referent bezweifeln. Um nur auf eines hinzuweisen! Gerade der sowohl im Aquariumbassin wie im Reagenzglase beobachtete Rückgang auch der Wasserkeime scheint doch jedenfalls auf ganz besonderen noch unaufgeklärten Bedingungen zu beruhen, die in freier Natur wohl nicht gegeben sein dürften.

Ernst Thesing.

Siegfeld, Untersuchungen über die Präservierung von Milchproben. (Milchwirtschaftliches Centralblatt. 1905. Heft 11.)

Nach den angeführten Versuchen wirkt Formalin im allgemeinen besser konservierend auf Milchproben als Kaliumbichromat. Es dürfte von dem mit der gleichen Menge Wasser verdünnten käuflichen Präparat für 100 ccm

1 Tropfen zur längeren Konservierung frischer Milch.

2 Tropfen zur 2—3 Wochen dauernden Gerinnungshemmung in schon angesauerter Milch genügen.

3 Tropfen schützen mit ziemlicher Sicherheit einen Monat und mehr vor Gerinnung. Im allgemeinen wird ein Zusatz von 2 Tropfen auf 100 ccm das Empfehlenswerte sein. Bei Kaliumbichromat ist selbst bei Zusatz von 1 ccm 5-proz. Lösung auf 100 ccm nicht vollständige Sicherheit vorhanden, daß die beabsichtigte Wirkung erreicht wird. Stärkere Lösungen aber sind nicht empfehlenswert, da sie die Untersuchungsergebnisse stören können.

Durch Formalin, weniger durch Kaliumbichromat, wird die Acidität der Milch nach Verf. weit stärker erhöht, als sich aus der Acidität des betreffenden Mittels selbst berechnet.

Zum Schluß hebt Verf. hervor, daß selbst ein verhältnismäßig hoher Zusatz von Präservierungsmitteln Zersetzungen nicht vollständig hintanzuhalten vermag. Weiter, daß möglicherweise hierbei die Säurebakterien stärker gehemmt werden, als manche anderen, wie überhaupt der Aciditätsgrad durchaus keinen vollkommenen Maßstab für die in der Milch vor sich gehenden Zersetzungen abgibt. Dies ist besonders bezüglich der Empfehlung mit Formalin präservierter Milch als Säuglingsnahrung zu beachten.

(Bei der vom Verf. selbst hervorgehobenen Unsicherheit der Aciditätsbestimmung dürfte viel weitergehende, konsequente Benutzung von Parallelbestimmungen und Berechnung des wahrscheinlichen Fehlers, vgl. z. B. Pfeiffer, Mitteilungen der landw. Institute der kgl. Universität Breslau. Bd. II. p. 647 durchaus empfehlenswert sein.)

Ehrenberg (Breslau).

Hewlett, An experimental investigation of the Budde process for the preservation of milk. (Lancet. 1906. Jan. 27. p. 209.)

Die von Budde angegebene, in den nordischen Ländern viel angewandte Methode zur Milchkonservierung ist folgende. Die möglichst

reinlich gemolkene Milch wird sofort heruntergekühlt. Dann wird eine entsprechende Menge von H_2O_2 der Milch zugesetzt und diese mindestens 3 Stunden auf $51-52^\circ$ erhitzt. Temperaturen unter 48° sind unwirksam, über 55° ändern die Eiweißstoffe der Milch. Durch das Erhitzen wird H_2O_2 mittels der in der Milch enthaltenen Katalase in H_2O und O zerlegt, welche letztere in statu nascenti sehr kräftig bakterizid wirkt. Zu Ende der Behandlung ist der gesamte H_2O_2 zerlegt, und der Nachteil besteht lediglich in einem geringen H_2O -Zusatz zur Milch. Für den Liter Milch bedarf man 15 ccm einer 3-proz. H_2O_2 -Lösung. Der Wasserzusatz würde also 1,5 Proz. betragen und der Fettgehalt bei einer Annahme von 3 Proz. auf 2,95 Proz. herabgesetzt werden. Die Menge des zuzusetzenden H_2O_2 hängt von dem nicht konstanten Katalasegehalt der Milch ab.

Zur Prüfung der Leistungsfähigkeit des Verfahrens wurden folgende Versuche vorgenommen. Milchproben wurden Suspensionen von *Bac. typhi*, *tuberculosis*, *anthracis*, *mycoides*, *diphtheriae*, *acidilactici*, *coli*, *paratyphi*, *dysenteriae*, *Vibr. cholerae*, *Micrococ. pyogen. aur.* zugesetzt und diese dann dem Budde-Prozeß unterworfen. Kontrollproben blieben unbehandelt. Alle nicht sporenbildenden Mikroorganismen einschließlich des Tuberkelbacillus werden durch den Prozeß vernichtet. Sporenbildende Organismen, *Bac. anthrac.*, *subtil. mycoid.*, *Penicill. glauc.* werden nur in der Zahl vermindert, indem die Dauerformen der Zerstörung entgehen. Die Hitze allein übt den zerstörenden Einfluß nicht aus. Die behandelte Milch ist im Aussehen, Geruch und Geschmack nicht verändert. Der Säuregrad wird nicht erhöht. Die quantitative Zerstörung der Mikroorganismen bei der Behandlung beträgt etwa 99,9 Proz.

H. Ziesché (Leipzig).

Henneberg, W., Die im lagernden Essig lebenden Organismen und die bei der Pasteurisierung des Essigs anzuwendenden Temperaturen. (Die deutsche Essigindustrie 1905. No. 46.)

Die Veränderungen im lagernden Essig, die sich häufig als Trübungen, Schleimbildungen und Kahmhautbildungen zeigen, müssen auf die Entwicklung verschiedener Organismen zurückgeführt werden. Trübungen können vielfach durch Essigaale oder durch fein verteilte Essigbakterien, Kahmhäute durch Kahmhefen oder ebenfalls durch Essigbakterien und schließlich Schleimbildungen durch Schleimessigbakterien (*B. xylinum* und verwandte Formen) entstehen. Essige mit geringer Säure können durch Kahmhefen und Essigbakterien im Säuregehalt stark zurückgehen, unter bestimmten Bedingungen diesen sogar schließlich völlig einbüßen, so daß Fäulnis eintritt. Durch *B. xylinum* kann das Aroma im Essig zum Verschwinden gebracht werden, oder es können die durch diese Art entstandenen unangenehmen Geruchstoffe dasselbe gänzlich verdecken.

Es bietet also jedenfalls der fertige Essig auch dann, wenn er bei fast völligem Ausschluß von organischen natürlichen Nährstoffen, wie Bier, Wein, Hefeabkochung u. s. w. hergestellt wurde, den genannten Lebewesen noch genügend Nahrung. Die Kahmhefe und die Essigbakterien verzehren die Essigsäure, während den Essigaalen die Essigbakterien zur Nahrung dienen.

Eine in der Praxis längst beobachtete Tatsache ist, daß der Essig

um so mehr den genannten Veränderungen ausgesetzt ist, je geringer sein Gehalt an Essigsäure ist.

Wie Verf. früher feststellte, kann der Essigaal sich nur dann, wenn der Essig 6 Proz. und weniger Säure enthält, reichlich vermehren und infolgedessen nur unter diesen Bedingungen starke Trübungen durch seine Anwesenheit verursachen. Es ist dies eine Folge der Säure selbst, die der Essigaal nur bis zu dem genannten Grade auf die Dauer ohne Schaden ertragen kann.

In der Empfindlichkeit gegen größere Mengen Essigsäure folgt dann die Kahlhefe. Verf. hat bisher nur einmal eine Kahlhefe beobachtet, die bei 3 Proz. Essigsäure noch gute Entwicklung aufwies, sonst vermochte oft schon 1 Proz. und fast immer 2 Proz. Essigsäure die Entwicklung der Kahlhefen zu unterdrücken.

Sehr viel widerstandsfähiger sind einige Essigbakterienarten, die selbst in Essigen mit 11 Proz. Säure noch wuchsen. Stets geht aber in stark sauren Essigen die Vermehrung derselben viel langsamer und viel weniger üppig von statten als in solchen mit geringerem Säuregehalt.

Für alle genannten Organismen ist zum Wachstum nötig, daß der Essig in nicht luftdicht verschlossenen Gefäßen, sondern bei Luftzutritt, z. B. in nicht oder nicht festverkorkten oder in halb angefüllten Flaschen oder in nicht spundvollen Fässern lagert.

Damit der lagernde Essig haltbar ist, muß derselbe pasteurisiert werden. Pasteurisierter säurestarker Essig ist infolge des Fehlens sporenbildender Arten, die im Essig sich zu entwickeln vermögen, dauernd steril, wenn eine neue Infektion vermieden wird. Essige mit geringem Säuregehalt können nach der Pasteurisierung durch die Luft wieder mit Kahlhefen oder Essigbakterien infiziert werden. Verf. konnte die Essigfliegen als Ueberträger der genannten Mikroorganismen beobachten. Von Essigaalen wird ein pasteurisierter, vor dem Luftzutritt nicht geschützter Essig wohl stets frei bleiben, da diese Würmer nicht oder nur äußerst selten unter ganz bestimmten Verhältnissen durch die Essigfliegen übertragen werden können.

Verf. hat nun durch viele Versuche die für Pasteurisierung des Essigs nötigen Temperaturen festzustellen gesucht. Ein zu hohes Erhitzen des Essigs muß schon, um nicht Verluste an Säure und Bukettstoffen zu erleiden, vermieden werden.

Die Abtötungstemperatur für den Essigaal liegt nach neueren Versuchen des Verfs. in 3—6-proz. Essigen etwas höher als in 12-proz. In allen Fällen aber genügte eine kurze Erhitzung bis auf 47,5° C oder eine 2 Minuten lang andauernde bei 46° C, um sämtliche Aelchen abzutöten. In früheren Versuchen war vom Verf. als Abtötungstemperatur 44° C angegeben. Dieses etwas abweichende Ergebnis ist dadurch zu erklären, daß damals gegen Säure sehr empfindliche Aelchen als Versuchsmaterial dienten, während die neuen Versuche mit unmittelbar aus dem Schnell-essigbildner entnommenen, d. h. an starke Säure mehr gewöhnten Aelchen angestellt wurden.

Betreffs der Abtötung in stärkeren Essigen müssen die Versuche mit Kahlhefen nochmals wiederholt werden. In Wasser wurde eine in 3-proz. Essig gewachsene Kahlhefe erst bei 60° C abgetötet, während die entsprechende Temperatur im stark sauren Essig sicherlich viel niedriger liegen dürfte.

Schleimessig- und Schnelllessigbakterien entwickelten sich bei dauernder Aufbewahrung nur in vereinzelt Fällen noch bei 37—38° C, bei 39° C und darüber dagegen nicht mehr. Wenn eine vorübergehende kurze Erhitzung zur Anwendung kam, so waren die Ergebnisse folgendermaßen:

B. xylinum, in Wasser erhitzt, lebte bei 45° (in 7 Minuten bis auf 45° erhitzt) noch, dagegen nicht mehr bei 50° (in 2½ Minuten weiter bis auf 50° erhitzt).

In 3-proz. Essig lebte *B. xylinum* bei 47,5° noch, nicht mehr bei 50°. In 5,4-proz. Essig war es noch bei 45°, dagegen nicht mehr bei 48° am Leben. In 10-proz. Essig war diese Art bei 46°, wenn diese Temperatur 2 Minuten innegehalten wurde, und in 12-proz. Essig bereits bei 35° abgetötet.

Ähnlich verhalten sich die Schnelllessigbakterien, die in 3—5,4-proz. Essig bei 47—48° abgetötet waren, dagegen bei 40° und 45° noch lebten.

In 12-proz. Essig waren sie bei 30—32° C noch am Leben, bei 35° jedoch bereits abgetötet.

Es geht also nach diesen Angaben, wie auch von vornherein schon zu vermuten ist, das Abtöten der Essigbakterien in hochprozentigen Essigen bei niedrigerer Temperatur als in dünnen vor sich. Ein bis auf 48—50° erhitzter oder ein bei 46° 2 Minuten lang erhitzter Essig ist jedenfalls völlig frei von lebenden Essigbakterien.

Für die Praxis wäre es von großer Wichtigkeit, wenn man durch Erhitzung des Ansäuerungsessigs die Aelchen abtöten könnte, ohne daß die Schnelllessigbakterien ebenfalls zum Absterben gebracht würden. Man hätte dann älchenfreien Ansäuerungsessig zum Ansäuern neuer Essigbildner. Wie aus obigen Angaben schon hervorgeht, ist dies leider nicht möglich, da die Aelchen sich widerstandsfähiger als die Schnelllessigbakterien erweisen. In einigen Versuchen gelang es, durch Erhitzen eines 3-proz. Essigs bis auf 47,5° und ebenso durch 9-tägiges Stehenlassen bei 38° die Aelchen zu töten, das *B. xylinum* dagegen am Leben zu erhalten, da letztere Art eine größere Widerstandsfähigkeit besitzt als die Schnelllessigbakterien. Für die Praxis ist dies aber ohne Interesse.

Das Gesamtergebnis dieser Untersuchungen ist also, daß ein Essig, um haltbar zu werden, nur kurze Zeit bis auf 48—50° C erhitzt zu werden braucht. Die älteren für den Essig angegebenen Pasteurisierungstemperaturen, 55—60°, die während einer Stunde innegehalten werden sollen, sind jedenfalls viel zu hoch.

Autoreferat.

Chuard, E. et Porchet, F., Recherches sur l'adhérence comparée des solutions de verdet neutre et des bouillies cupriques, employées dans la lutte contre le mildiou. (Comptes Rendus de l'Académie des sciences, Paris. T. CXL. 1905. p. 1394—1396.)

Das im Wasser lösliche und daher leicht präparierbare Neutralgrün zeigt die Neigung, die stets schwierig zu handhabenden Kupferbrühen zu verdrängen. Trotz der Löslichkeit ist noch zu fürchten, daß es leicht vom Regenwasser weggeschwemmt werden würde. Die Untersuchungen der Verff. zeigen, daß das Neutralgrün sich durch einfache Verdunstung an der Luft in schwer lösliches basisches Grün verwandelt. Die ver-

gleichsweise Adhärenz von Neutralgrün und Kupferbrühe ist zu berechnen, wenn man die angewendeten Kupfermengen in Betracht zieht. Die Behandlung mit Bordeauxbrühe hinterläßt auf den Blättern 4,5 bis 19 Proz. Kupfer und die Behandlung mit Neutralgrün 8,8—31,9 Proz. Das Neutralgrün hat also eine größere Adhärenz als die Kupferbrühen.
Houard (Paris).

Wilfarth, Roemer und Wimmer, Ueber die Vertilgung der Nematoden durch Behandlung des Bodens mit Schwefelkohlenstoff und deren Wirkung auf die Zuckerrübe. (Zeitschr. des Vereins der deutschen Zuckerindustrie. 600. Lieferung. Januar 1906.)

Die Versuche wurden in 30 kg trockene Erde fassenden Steingutgefäßen ausgeführt, wobei dann je zwei Gefäße mit nematodenverseuchter Erde ohne weitere Behandlung beschickt wurden, zwei weitere die gleiche Erde nach dreitägiger, und zwei endlich nach vierzehntägiger Behandlung mit Schwefelkohlenstoff erhielten. Nach 3 Tage lang fortgesetzter Lüftung in dünner Schicht wurde der Boden dann in die Gefäße gefüllt.

Ueber die Erträge gibt folgende Tabelle die wichtigsten Zahlen:

| Gefäß No. | Behandlung mit Schwefelkohlenstoff | Ernte an Rüben (trocken) | Ernte an Kraut (trocken) | Wurzeln sind | Zucker in der frischen Rübe | Nichtzucker |
|-----------|------------------------------------|--------------------------|--------------------------|---|-----------------------------|-------------|
| 97 | keine | 100,18 g | 58,60 g | stark mit Nematoden besetzt nematodenfrei! | 17,65 Proz. | 1,48 Proz. |
| 98 | " | 112,80 " | 50,90 " | | 16,55 " | 1,27 " |
| 99 | 3 Tage lang | 168,50 " | 61,17 " | | 17,65 " | 2,20 " |
| 100 | 3 " | 119,58 " | 55,48 " | " | 15,40 " | 3,32 " |
| 101 | 14 " | 132,16 " | 93,74 " | " | 16,95 " | 1,49 " |
| 102 | 14 " | 139,14 " | 63,51 " | " | 15,90 " | 2,29 " |

| Gefäß No. | Behandlung mit Schwefelkohlenstoff | Geernteter Zucker | Invertzucker in der Rübe | In der trockenen Pflanze: | K ₂ O | Na ₂ O | P ₂ O ₅ | N |
|-----------|------------------------------------|-------------------|--------------------------|---------------------------|------------------|-------------------|-------------------------------|---|
| 97 | keine | 73,95 g | 0,712 g | 1,039 g | 3,295 g | 0,449 g | 1,327 g | |
| 98 | " | 81,59 " | 0,789 " | 0,711 " | 3,212 " | 0,454 " | 1,212 " | |
| 99 | 3 Tage lang | 127,26 " | 1,009 " | 3,026 " | 2,872 " | 1,165 " | 2,547 " | |
| 100 | 3 " | 85,93 " | 0,391 " | 3,516 " | 3,011 " | 1,835 " | 2,289 " | |
| 101 | 14 " | 98,99 " | 0,876 " | 4,068 " | 4,026 " | 1,004 " | 2,300 " | |
| 102 | 14 " | 105,10 " | 0,529 " | 3,140 " | 3,573 " | 1,109 " | 2,548 " | |

Die Verfasser schließen aus den Ertragswerten, daß durch die Wirkung des Schwefelkohlenstoffes die Erträge an trockenen Rüben wie Kraut bedeutend gesteigert worden sind. Weiter ergibt sich eine Bestätigung ihrer früher geäußerten Ansicht, daß durch die Nematoden den Rüben alle wichtigeren Nährstoffe in sehr erheblicher und nahezu gleicher Weise entzogen werden. Es schließt sich ein Hinweis auf die Vermehrung der Wasserverdunstung pro Gramm produzierte Trockensubstanz durch den Nematodenbefall an, und die Verfasser folgern endlich, daß, im Fall es gelingt, eine derartige Desinfektion des Bodens im großen auch nur einigermaßen wirksam durchzuführen, es wohl keinem Zweifel unterliegen kann, daß dadurch der Nematodenschaden wesentlich eingeschränkt, oder sogar verhindert werden kann.

(Ob es für die Gewinnung voll beweiskräftiger Ergebnisse zulässig ist, wie in diesem Falle mit nur je zwei Parallelgefäßen, von denen jedes nur eine Rübe enthält, zu arbeiten, mag bei den auch in vorliegender Arbeit sich gelegentlich geltend machenden individuellen Verschiedenheiten der Einzlrüben dahingestellt bleiben.)

Ehrenberg (Breslau).

Eger, Untersuchungen über die Methoden der Schädlingsbekämpfung und über neue Vorschläge zu Kulturmaßregeln für den Weinbau. (Aus dem Landwirtschaftlichen Institut der Universität Gießen.)

Verf. behandelt in allgemeinverständlicher und wohl mehr für den Praktiker berechneter Weise an der Hand der Literatur die wichtigsten Rebenschädlinge. Von den tierischen findet die *Phylloxera vastatrix* besonders eingehende Behandlung. In seinen Schlüssen bespricht er auch die eventuelle Aufgabe des Ausrottungsverfahrens dort, wo die Verseuchung eines Gebietes allgemein geworden ist, ohne sich über die Gefährlichkeit einer solchen Maßregel für andere benachbarte Gebiete unklar zu sein. Er fordert daher auch dann die Schaffung von Sicherheitsgürteln durch Bekämpfung vereinzelt auftretender Herde. Weiter wird auf die Widerstandsfähigkeit der verschiedenen amerikanischen Rebensorten eingegangen, und die Güte des bei ihrer Benutzung erzielbaren Weines behandelt. Berücksichtigung finden von tierischen Schädlingen ferner *Tortrix ambiguella*, *Pyralis vitana*, bei der von Erfolgen der Anwendung von schwefliger Säure berichtet wird, wobei sich die Kosten allerdings auf 50 bis 60 Mark pro Morgen belaufen, *Coccus vitis*, *Helix pomatia*, *Otiorhynchus sulcatus*.

Was die pflanzlichen Rebenschädlinge anbelangt, so empfiehlt Verf. bei *Peronospora viticola* in nassen Jahren bei der Bespritzung über $\frac{1}{2}$ Proz. der Brühe hinauszugehen und 1—2 Proz. Brühen zu verwenden. Es wird von den gegen höhere Konzentrationen als $\frac{1}{2}$ Proz. sprechenden Gründen lediglich die Kostenersparnisfrage herangezogen, ohne daß die neuere diesbezügliche Literatur ausreichend berücksichtigt würde.

Weiter finden Erwähnung: *Oidium Tuckeri*, *Sphaceloma ampelinum*, *Denatophora necatrix*, *Agaricus melleus*.

Auf die dann folgende Behandlung der Kulturmaßregeln u. s. w. kann hier nicht eingegangen werden, da es sich meist um Fragen speziell praktischer Art handelt.

Ehrenberg (Breslau).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines.

Animali utili all' agricoltura: Insetti, Uccelli, Mammiferi, Rettili, ecc. 12 figure disegnatte con esattezza scientifica e diligentemente colorate. Milano 1906. fol. 1 Taf. 2 M.

Auckly, Die Giftfestigkeit des Tierkörpers. (Landw. Ztschr. f. Elsaß-Lothringen. Jg. XXXIV. 1906. N. 11. p. 226—227.)

Bericht über die Tätigkeit der k. k. landwirtschaftlich-chemischen Versuchsstation und der mit ihr vereinigten k. k. landwirtschaftlich-bakteriologischen und Pflanzenschutzstation im Jahre 1905. (Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. IX. 1906. Heft 3. p. 129—238.)

Bodin, E., Les conditions de l'infection microbienne et l'immunité. Paris 1906. 190 p. 8°.

Hoffmann, M., Die neuesten Ergebnisse der Agricultur-Bakteriologie. (Nachrichten a. d. Klub d. Landwirte zu Berlin. Jg. 1906. N. 489. p. 4495—4505.)

Kayser, M., Microbiologie agricole. Paris 1905. 500 p. M. Fig. 4 M.

38*

- Kern, Ferdinand**, Mitteilungen aus dem kgl. kroatisch-slavonischen bakteriologischen Landesinstitute in Križevci. (Deutsche Ausgabe.) = Publikationen der wissenschaftlichen Institute der kgl. höheren landwirtschaftlichen Lehranstalt in Križevci (Kroatien). II. Križevci 1906. 60 p. 6 Taf. u. 2 Fig.
- , Beschreibung des Institutes. (Mitt. a. d. kgl. kroat.-slavon. bakteriolog. Landesinstitute in Križevci 1906. p. 21—29. 6 Taf. = Publikat. d. wiss. Inst. d. kgl. höh. landw. Lehranst. Križevci (Kroatien).)
- Kirchner, O.**, Bericht über die Tätigkeit der k. Anstalt für Pflanzenschutz in Hohenheim im Jahre 1905. (Württemberg. Wchnbl. f. Landw. 1906. N. 16. p. 306—312.)
- Koch, Alfred**, Einige Arbeiten des kgl. landwirtschaftlich-bakteriologischen Instituts der Universität Göttingen. (Mitt. d. Dtschen Landw.-Ges. Jg. XXI. 1906. N. 10. p. 111—115.)
- Stevens, F. L.**, The science of plant pathology. (Journ. El. Mitchell soc. Vol. XXI. 1905. p. 61—75.)
- The Bulletin of the Imperial Central Agricultural Experiment Station Japan. Vol. I. N. 1. Nishigahara, Tokio. December 1905. 94 p. 13 Taf.
- Verordnungen der hohen kgl. kroatisch-slavonisch-dalmatinischen Landesregierung, Abt. f. inn. Angelegenheiten, welche d. kgl. kroat.-slavon. bakteriolog. Landesinst. Križevci betreffen. (Mitt. a. d. kgl. kroat.-slavon. bakteriolog. Landesinst. Križevci 1906. p. 9—19.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

- Andreade, E.**, Influence of glycerin in differentiating certain bacteria. (Journ. of med. research. Vol. XIV. 1906. N. 3. p. 551—556.)
- Busch**, Ueber das Verhalten einer Bacillenwolke im fließenden Wasser. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. N. 4/6. p. 119—131.)
- Deegener**, Der mikrophotographische Apparat von H. O. Juel. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. Jg. IV. 1906. H. 5. p. 220—226. 4 Fig.)
- Fermi, Claudio**, Alte und neue Methode zum Nachweis der proteolytischen Enzyme. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. Heft 4/6. p. 176—191.)
- Hopkins, E. Guy**, A new reagent outfit for classes in bacteriology. (Journ. American med. assoc. Vol. XLVI. 1906. N. 13. p. 957. 3 Fig.)
- Kayser, Heinrich**, Eine Fixierungsmethode für die Darstellung von Bakterienkapseln. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906. Heft I. p. p. 138—140.)
- Kjer-Petersen**, Ein „Objektträgerkorb“ zum Färben von 12 Objektträgern auf einmal. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. N. 4/6. p. 191—192. 1 Fig.)
- Uyeda, Y.**, Ein neuer Nährboden für Bakterienkulturen. (Bull. of the Imp. central agric. exper. stat. Japan. Vol. I. 1905. N. 1. p. 59—68.)
- Zettnow**, Färbung und Teilung bei Spirochäten. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. LII. 1906. Heft 3. p. 485—494. 1 Taf.)
- , Nachtrag zur Färbung und Teilung von Spirochäten. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. LII. 1906. Heft 3. p. 539.)

Systematik, Morphologie.

- Anderson**, Jagttagelser ved underregelser of frittfluens. Overvintrings forhold. (Nort Landbrug. 1906. N. 4. Ref. in Mitt. d. Dtschen Landwirtschafts-Ges. Jg. XXI. 1906. St. 15. p. 170—171.)
- Ariola, V.**, Due nuovi trematodi parassiti dell' uomo. (Clinica med. Ital. Anno XLIV. 1905. N. 10. p. 607—609.)
- Austen, Ernest, E.**, Horse-flies (Tabanidae) and disease. (Journ. of trop. med. Vol. IX. 1906. N. 7. 98—99.)
- Barsali, E.**, Aggiunte alla micologia Pisana (Terza nota). (Bull. d. Soc. bot. Ital. 1905. N. 6. p. 201—205.)
- Bienstock**, Bacillus putrificus. (Straßburger med. Ztg. Jg. III. 1906. Heft 4. p. 107—112.)
- Brandt, Theodor**, Beiträge zur anatomischen Kenntnis der Flechtengattung Ramalina. (Hedwigia. Bd. XLV. 1906. Heft 3. p. 124—158. 3 Taf.)
- Braun, M.**, I parassiti animali dell' uomo. Traduz. Italiana sulle 3. edizione originale da F. Crevatin. Milano 1906. XI, 351 p. M. Fig. 6,50 M.
- Carrer, Cesare**, Un caso di Taenia nana (nell' uomo). (Riv. Veneta sc. med. Anno XXII. T. XLIII. 1905. Fasc. 12. p. 509—519.)
- Condorelli Francaviglia, Mario**, Anomalie riscontrate in due esemplari di Taenia Saginata Goetze. (Boll. Soc. Zool. Ital. Anno XIV. [Ser. 2, Vol. VI.] Fasc. 7/8. p. 273—282. M. Fig.)
- Foà, Anna**, Due novi flagellati parassiti. (Atti Accad. Lincei [Cl. Sc. fis., mat. e nat.] Rendic. Anno CCCII. 1905. Ser. 5. Vol. XIV. Fasc. 10. Sem. 2. p. 542—546. M. Fig.)

- Freeman, B. M.**, The affinities of the Fungus of *Lolium temulentum* L. (Ann. mycol. Vol. IV. 1906. N. 1. p. 32—34.)
- Fuhrmann, O.**, Die Tänien der Raubvögel. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XLI. 1906. Heft 1. p. 79—89. 32 Fig.)
- Giles, G. M.**, The anatomy of the biting flies of the genus *Stomoxys* and *Glossina*. (Journ. of trop. med. Vol. IX. 1906. N. 7. p. 99—102. 12 Fig.)
- , Mosquito Notes. (Journ. of trop. med. Vol. IX. 1906. N. 9. p. 130—132. 1 Fig.)
- Goebel, Oswald**, Sur les propriétés osmotiques des Trypanosomes. (Ann. soc. méd. de Gand. T. LXXXVI. 1906. p. 11.)
- Grünberg, K.**, Ueber blutsaugende Musciden. (Zool. Anz. Bd. XXX. 1906. N. 3/4. p. 78—93. 15 Fig.)
- de la Hoz, E. S.**, Champignons pathogènes et mycoses du continent américain. Thèse Paris, 1905. 8°.
- Heydrich, F.**, Die systematische Stellung von *Actinococcus* Kütz. (Ber. d. Dtschen bot. Ges. Bd. XXIV. 1906. Heft 2. p. 71—77. 1 Taf.)
- Higgins, M. Earle**, *Schistosoma haematobium* in the Canal zone. (Journ. American med. assoc. Vol. XLVI. 1906. N. 12. p. 831—882.)
- v. Höhnel, Franz**, Mykologische Fragmente. (Forts.) (Ann. Mycol. Vol. III. 1905. N. 6. p. 548—560. M. Fig.)
- v. Janicki, C.**, Studien an Säugetier-Cestoden. (Ztschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXXI. 1906. Heft 2/3. p. 505—597.)
- Johnson, Grove**, *Saccharomyces thermantitonum*. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXIII. 1906. N. 16. p. 200—202.)
- Kaestner, Paul**, Die tierpathogenen Parasiten. Berlin (Schoetz) 1906. VII, 161 p. 8°.
M. Fig. 5 M.
- Kendall, Arthur J.**, A new species of trypanosome occurring in the mouse *Mus musculus*. (Journ. of infect. dis. Vol. III. 1906. N. 2. p. 228—231.)
- Klein, E.**, A new microbe, pathogenic for rodents, *Bacillus equi*. (The Veterinary Journ. N. Ser. Vol. XIII. 1906. N. 76. p. 199—202. 1 Fig.)
- Krieger, W.**, Einige neue Pilze aus Sachsen. (Ann. mycol. Vol. IV. 1906. N. 1. p. 39—40.)
- Kuhlgats, Th.**, Ueber die Capside *Deimatostages contumax* nov. gen., nov. spec., die westafrikanische Kakao-„Rindenwanze“. (Zool. Anz. Bd. XXX. 1906. N. 1/2. p. 28—35. 4 Fig.)
- Laveran, A.**, Sur une hémogregarine de l'anguille. (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 9. p. 457—458.)
- , Au sujet de *Haemogregarina Neireti*. (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 9. p. 458.)
- Léger, L.**, Sur une nouvelle maladie myxosporidienne de la Traite indigène. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLII. 1906. N. 11. p. 655—656.)
- Le Moal**, Étude sur les moustiques en Afrique occidentale française (rôle pathogénique-prophylaxie). (Ann. d'hyg. et de méd. colon. T. IX. 1906. N. 2. p. 181—219.)
- Linton, E.**, Parasites of Fishes of Beaufort, N. Carolina. (Bull. of the Bureau of Fisheries, U. S. Depart. of Commerce and Labor. Vol. XXIV. 1904. Washington 1905. 34 Taf.)
- Lounsbury, P.**, The brazil fruit fly parasites. (Agric. Journ. of the Cape of good hope. Vol. XXVIII. 1906. N. 4. p. 538—540.)
- Lühe, Max**, Zur Kenntnis von Bau und Entwicklung der Babesien. (Zool. Anz. Bd. XXX. 1906. N. 1/2. p. 45—52.)
- MacCallum, W. G.**, On two new Amphistome parasites of Sumatran fishes. (Zool. Jahrb. Abt. f. Syst. Bd. XXII. 1905. Heft 6. p. 667—678. 2 Fig.)
- Magnus, P.**, *Uropyxis Rickiana* P. Magn. und die von ihr hervorgebrachte Krebsgeschwulst. (Hedwigia. Bd. XLV. 1906. Heft 3. p. 173—177. 1 Taf. u. 1 Fig.)
- Manca, Gr.**, Trypanosomes du lapin et de l'anguille en Sardaigne. (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 10. p. 494.)
- Marshall, Wm. S. and Gilbert, N. C.**, Three new Trematodes found principally in Black Bass. (Zool. Jahrb. Abt. f. Syst. Bd. XXII. 1905. Heft 4. p. 477. 1 Taf.)
- de Meijere, J. C. H.**, Ueber zwei neue holländische Cecidomyiden, von welchen die eine an Kohlpflanzen schädlich ist. (Tijdschr. voor Entomol. Jg. 1906. Aflev. 1. p. 18—28. 1 Taf.)
- Nickerson, W. S.**, The broad tapeworm in Minnesota. (Journ. American med. assoc. Vol. XLVI. 1906. N. 10. p. 711—713.)
- Nordenskiöld, Erik**, Zur Anatomie und Histologie von *Ixodes reduvius*. (Zool. Anz. Bd. XXX. 1906. N. 3/4. p. 118—125. 8 Fig.)
- Novy, F. G., Macneal, W. J. and Torrey, H. N.**, Mosquito trypanosomes. (Journ. of hyg. Vol. VI. 1906. N. 2. p. 110—111.)
- Nufer, Walther**, Die Fische des Vierwaldstättersees und ihre Parasiten in: Festschr. z.

- Jubiläumsfeier d. 50-jähr. Bestehens der naturf. Ges. Luzern. Luzern 1905. 232 p. 4 Taf.
- Odhner, Theodor**, Der wahre Bau des „Synaptobothrium copulans“ v. Linst. 1904, einer von ihrem Autor verkannten Distomide. (Zool. Anz. Bd. XXX. 1906. N. 3/4. p. 59—66. 2 Fig.)
- Oertel, G.**, Eine neue Rhabdospora-Art. (Ann. Mycol. Vol. IV. 1906. N. 1. p. 35. 1 Fig.)
- Onuki, S.**, On a crane fly (*Tipula parva?*). (Ine-no-Kiriuzi). (Bull. of the Imp. central agric. exper. stat. Japan. Vol. I. 1905. N. 1. p. 90—94. 1 Taf.)
- Patton, W. S.**, The culicid fauna of the Aden hinterland, their haunts and habits. (Journ. of the Bombay nat. hist. soc. T. XVI. 1905. p. 537—623. 5 Taf.)
- Peres, C.**, Microsporidies parasites des crabes d'Arcachon. [Note prélim.] Bull. Stat. biol. Arcachon 1905. 22 p. 8^o. 14 Fig. 1,50 M.
- Petch, T.**, Mycological notes. (Tropical Agricult. N. Ser. Vol. XXV. 1906. N. 7. p. 839—840.)
- Rajat, H. et Péju, G.**, Variations morphologiques du *B. d'Eberth* sous l'influence de certains sels. (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 9. p. 468—469.)
- Railliet, A. et Henry, A.**, Sur les oesophagostomes des primates. (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 9. p. 448—450.)
- Rehm, Ascomycetes exs.** Fasc. 36. (Ann. mycol. Vol. IV. 1906. N. 1. p. 64—71.)
- , *Ascomycetes Americae borealis*. (Ann. Mycol. Vol. III. 1905. N. 6. p. 516—520.)
- Remlinger, P.**, Les microbes filtrants. (Bull. de l'inst. Pasteur. Année IV. 1906. N. 8. p. 337—345.)
- Roewer, Carl Friedrich**, Beiträge zur Histogenese von *Cercariaeum heliciis*. (Jenaische Ztschr. f. Naturw. Bd. XLI. 1906. Heft 1/2. p. 185—228.)
- Saccardo, P. A.**, Notae mycologicae. Series VI. Ann. Mycol. Vol. III. 1905. N. 6. p. 505—516.)
- Seltner, M.**, *Resseliella piceae*, die Tannensamen-Gallmücke. (Verh. d. k. k. zool.-bot. Ges. Wien. Bd. LVI. 1906. Heft 2/3. p. 174—186. 5 Fig.)
- Sydow, H. et P.**, Neue und kritische Uredineen. IV. (Annal. mycol. Vol. IV. 1906. N. 1. p. 28—32.)
- Trotter, A.**, Nuove ricerche sui micromiceti delle galle e sulla nature dei loro rapporti ecologici. (Ann. Mycol. Vol. III. 1905. N. 6. p. 521—547. 7 Fig.)
- Uyeda, Y.**, *Bacillus Nicotianae*. sp. nov.; die Ursache der Tabakwelkkrankheit oder Schwarzbeinigkeit in Japan. (Bull. of the Imp. central agric. exper. stat. Japan. Vol. I. 1905. N. 1. p. 39—57. 5 Taf.)
- Wahl, Bruno**, Die Kohlblattschabe und ihre Raupen. (Oesterr. landw. Wchnbl. Jg. XXXI. 1905. N. 30.)
- Wellman, Fredk. Creighton**, Notes on the common mosquitoes of Bihe and Bailundo districts, Portuguese West Africa. (Journ. of infect. dis. Vol. III. 1906. N. 2. p. 187—190. 2 Fig.)
- Wellman, F. C.**, On a hemipterous insect which preys upon blood-sucking arthropods and which occasionally attacks mammals (man). (Journ. of trop. med. Vol. IX. 1906. N. 7. p. 97—98. 3 Fig.)
- Westergren, T.**, Monographie der auf *Bauhinia* vorkommenden *Uromyces*arten (Arkiv för Bot. Bd. IV. 1905. Heft 4. 2 Taf.)
- Will, H.**, Beiträge zur Kenntnis der Sprosspilze ohne Sporenbildung, welche in Brauereibetrieben und deren Umgebung vorkommen. [2. Mitt.] (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXIX. 1906. N. 17. p. 241—243.)
- Zahlbruckner, Alexander**, Lindauopsis, ein neuer Flechtenparasit. (Berichte d. Dtschen bot. Ges. Bd. XXIV. 1906. Heft 3. p. 141—146. 1 Taf.)
- Zimmermann, Hugo**, Die Obstbaumschädlinge aus der Familie der Rüsselkäfer. (Blätt. f. Obst-, Wein- u. Gartenbau. Brünn 1905. N. 3/6. 20 p. 8^o)
- Biologie (Gärung, Fäulnis, Stoffwechselprodukte etc.).
- Barbey, A.**, Neue Beobachtungen über die Borkenkäfer der Seestrandkiefer. 1. *Crypturgus mediterraneus* Eichh. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. Jg. IV. 1906. Heft 5. p. 217—220. 5 Fig.)
- Sacchi, Pietro e Bassanti, Alberto, C.**, Contribuzione allo studio della teratologia entomologica. (Riv. Ital. sc. nat. Anno XXV. 1906. N. 11/12. p. 130—131.)
- Bergthell, C.**, Study of fermentation as applied to agriculture. (Agric. Journ. of India. Vol. I. 1906. Part 1.)
- Blackman, Vernon H. and Fraser, C. J.**, On the sexuality and development of the ascocarp of *Humaria granulata* Quéf. (Proc. of the R. Soc. Ser. B. Vol. LXXXVII. 1906. Biol. Ser. p. 354—368. 3 Taf.)
- Blakeslee, Albert Francis**, Zygosporangium Germinations in the Mucorineae. (Ann. mycol. Vol. IV. 1906. N. 1. p. 1—28. 1 Taf.)

- Borrel, A. et Burnet, Et.**, Développement initial in vitro du Spirille de la poule. (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 11. p. 540—542.)
- Brüning, Hermann**, Aetherische Oele und Bakterienwirkung in roher Kuhmilch. (Centralbl. f. inn. Med. Jg. XXVII. 1906. N. 14. p. 337—346.)
- Bubák, Fr.**, Infektionsversuche mit einigen Uredineen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. N. 4/6. p. 150—159.)
- Dangeard**, La fécondation nucléaire chez les mucorinées. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLII. 1906. N. 11. p. 645—646.)
- Dawson, H. M.**, Der Mechanismus der Enzym- und Fermentwirkung. (Ztschr. f. Spiritusind. Jg. XXIX. 1906. N. 11. p. 94—95; N. 12. p. 105.)
- Effront, J.**, Ueber die Bildung des Amylalkohols bei der Hefegärung. (Bull. de l'Assoc. de Chim. de sucrerie et distillerie. Bd. XXIII. 1905. p. 393—397.)
- Fernbach, A.**, Einfluß der Bakterien auf die Tätigkeit der Enzyme. (Ztschr. f. Spiritusind. Jg. XXIX. 1906. N. 12. p. 102.)
- Fischer, Alfred**, Ueber Plasmoptyse der Bakterien. (Ber. d. Dtschen bot. Ges. Jg. XXIV. 1906. Heft 2. p. 55—63. 1 Taf.)
- Gage, Stephen de M. and Stoughton, Grave van Everen**, A study of the laws governing the resistance of Bacillus coli to heat. (Technol. Quarterly. Vol. XIX. 1906. N. 1. p. 41—54.)
- Gauly, August**, Borkenkäferstudien. 4. Zuchtversuche mit Tomicus typographus in künstlichem tropischen Klima. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. Jg. IV. 1906. Heft 4. p. 160—164.)
- Heinse, Berthold**, Sind Pilze imstande, den elementaren Stickstoff der Luft zu verarbeiten und den Boden an Gesamtstickstoff anzureichern? (Ann. mycol. Vol. IV. 1906. N. 1. p. 40—63.)
- Henneberg, W.**, Zur Kenntnis der Abtötungstemperatur der auf dem Malze lebenden schädlichen Mikroorganismen. (Ztschr. f. Spiritusind. Jg. XXIX. 1906. N. 11. p. 93—94.)
—, Zur Kenntnis der Abtötungstemperatur der auf dem Malze lebenden schädlichen Mikroorganismen. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXIII. 1905. N. 15. p. 188—190.)
—, Zur Kenntnis der Schnell- und Weinessigbakterien. Beschreibung fünf neuer Essigbakterien und das B. xylinum mit 9 Zeichnungen und 1 Tafel mit 28 Photogrammen von 15 Essigbakterienarten. (D. dtische Essigindustrie. Jg. X. 1906. N. 11. p. 89—93; N. 13. p. 106—108; N. 14. p. 113—116; N. 15. p. 121—124; N. 16. p. 129—132.)
- Koch, Alfred und Kröber, Eduard**, Der Einfluß der Bodenbakterien auf das Löslichwerden der Phosphorsäure aus verschiedenen Phosphaten. (Fühlings landw. Ztg. Jg. LV. 1906. Heft 7. p. 225—235.)
- Kosai, Y.**, Ueber die bakterizide Wirkung des phenylpropionsäuren Natrons. (Bull. of the Imp. central agric. exper. stat. Japan. Vol. I. 1905. N. 1. p. 69—72.)
- Lécaillon, A.**, Sur quelques points de l'histoire naturelle des Tabanides, en particulier de Tabanus quatuornatus Meig. (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 9. p. 459—460.)
- Léger, L. et Duboscq, O.**, L'évolution des Eecrina des Glomeris. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLII. 1906. N. 10. p. 590—592.)
- Léger, L. et Hesse, E.**, Sur la structure de la paroi sporale de Myxosporidies. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLII. 1906. N. 12. p. 720—722.)
- Machida, S.**, On the Influence of Calcium and Magnesium Salts on certain Bacterial Actions. (Bull. of the Imp. central agric. exper. stat. Japan. Vol. I. 1905. N. 1. p. 3—12.)
- Moroff, Th.**, Sur l'évolution des prétendues Coccidies des Céphalopodes. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLII. 1906. N. 11. p. 652—654.)
- Nathan, Leopold und Fuchs, Willy**, Ueber die Beziehungen des Sauerstoffes und der Bewegung der Nährlösung zur Vermehrung und Gärtätigkeit der Hefe. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXIX. 1906. N. 16. p. 226—234.)
—, Ueber die Beziehungen des Sauerstoffes und der Bewegung der Nährlösung zur Vermehrung und Gärtätigkeit der Hefe. Kritische Uebersicht und neue Untersuchungen. [Forts.] (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXIX. 1906. N. 17. p. 243—252.)
- Pringsheim, Hans H.**, Ueber die sogenannte „Bios-Frage“ und die Gewöhnung der Hefe an gezuckerte Mineralsalznährlösungen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. N. 4/6. p. 111—119. 2 Taf.)
- R. L.**, Zum Kapitel der flockenden Hefe infolge der Bakterieninfektion. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXIII. 1904. N. 18. p. 221.)
- Saccardo, P. A.**, Mycetes aliquot congoenses novi. (Ann. Mycol. Vol. IV. 1906. N. 1. p. 72—77. 1 Taf.)
- Salmon, Ernest S.**, On the variation shown by the conidial stage of Phyllactinia corylea (Pers.) Karst. 1. (Ann. Mycol. Vol. III. 1905. N. 6. p. 493—505.)
- Schneider, Otto**, Experimentelle Untersuchungen über schweizerische Weidenrostpilze. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. N. 4/6. p. 159—176.)

- Schrote nach van Laer, H.**, Die Entwicklung unserer Kenntnisse über die Natur der Hefe als eines Lebewesens. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXIII. 1906. N. 14. p. 171—172. [Petit Journ. du Brasseur. 1905].)
- Stefan, Josef**, Studien zur Frage der Leguminosenknöllchen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. N. 4/6. p. 131—149. 1 Taf.)
- Todur**, Contribution à l'étude de l'action des sels inorganiques et organiques d'argent sur diverses espèces d'Aspergillus, suivi d'un essai thérapeutique. Thèse Nancy, 1905. 84 p. 8°.
- Tubeuf**, Ueberwinterung des Birnenrostes auf dem Birnbaum. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstw. Jg. IV. 1906. Heft 3. p. 150—152.)
- Viala, P. et Pacottet, P.**, Sur les levures sporulées de Champignons à périthèces (Gloeosporium). (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLII. 1906. N. 8. p. 458—461.)
- , Sur les kystes de Gloeosporium et sur leur rôle dans l'origine des levures. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLII. 1906. N. 10. p. 518—520.)
- Villa, P. et Pacottet, P.**, Formes de reproduction de l'anthraxose. (Rev. de viticult. Année XIII. 1906. N. 641. p. 341—347; N. 642. p. 369—375. 8 Fig.)
- Wahl, Bruno**, Mottenraupen in den Korkstopfeln von Weinflaschen. (Wiener landw. Ztg. 1906. N. 49.)
- Will, H.**, Oberhefe und Unterhefe. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXIX. 1906. N. 16. p. 235—236.)
- Wolf, Eugen**, Beiträge zur Entwicklungsgeschichte von *Cyathocephalus truncatus* Pallas. (Zool. Anz. Bd. XXX. 1906. N. 1/2. p. 37—45. 5 Fig.)
- Zikes, Heinrich**, Ueber Anomalushefen und eine neue Art derselben (*Willia Wichmanni*). (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. N. 4/6. p. 97—111.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft, Wasser, Boden.

- Bruns, Hayo**, Leitfaden für die Ausführung bakteriologischer Wasseruntersuchungen. Anweisung für Keimzähler. Berlin (Schoetz) 1906. VIII, 58 S. M. Fig. 1 Fig. 1,50 M.
- Dünelberg, Friedrich Wilhelm**, Die Reinigung des Wassers für kommunale, häuslich und gewerbliche Zwecke, besonders auch für Brauereien. (Wchnschr. f. Brauereien. Jg. XXIII. 1906. N. 18. p. 223—226. 2 Fig.)
- Gillette, Cassius E.**, Filtration of public water supplies. (Med. Record. Vol. LXIX. 1906. N. 11. p. 468—471.)
- Haenle, Oskar**, Bakteriologische Studien über künstliches Selterswasser. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1906. Heft 5. p. 609—613.)
- Harrington, Charles**, Public water filtration in Massachusetts. (Med. Record. Vol. LXIX. 1906. N. 11. p. 471—472.)
- Kirchner, Walter C. G.**, The bacteriological examination of river water. (Trans. of the Acad. of Sc. of St. Louis. Vol. XV. 1905. N. 5. p. 265—298. 1 Fig.)
- Lambert, Gabriel**, De la purification des eaux de boisson et nouveau procédé chimique de purification totale et rapide des eaux destinées à l'alimentation. (Ann. d'hyg. et de méd. colon. T. IX. 1906. N. 2. p. 266—297.)
- Marocco, Giovanni**, Nuovo apparecchio per la presa dei campioni d'acqua a scopo batteriologico. (Riv. d'igiene e sanità pubbl. Anno XVII. 1906. N. 8. p. 237—242. 2 Fig.)
- Whipple, G. C.**, The microscopy of drinking water. 2. edition. New York 1905. XIII, 323 p. 8°. M. Fig. 17 M.

Nahrungsmittel.

- Jacobj, C. und Walbaum, H.**, Zur Bestimmung der Grenze der Gesundheitsschädlichkeit der schwefligen Säure in Nahrungsmitteln. (Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. Bd. LIV. 1906. Heft 6. p. 421—438.)

Milch, Molkerei.

- Backhaus**, Ueber aseptische Milchgewinnung. (Milch-Ztg. Jg. XXXV. 1906. N. 15. p. 167—171.)
- Basenau, F.**, The sterilisation of milk. (Lancet. 1906. Vol. I. N. 12. p. 862—863.)
- v. Behring und Dammann**, Bekämpfung der Tuberkulose beim Rindvieh und hygienische Milcherzeugung. Berlin (Parey) 1906. 43 p. 8°. (Arch. d. Dtsch. Landwirtschaftsrats.) 1 M.
- Bloch**, Quelques notes sur la fabrication et la composition du Teou-Fou (fromage de haricots chinois). (Ann. d'hyg. et de méd. colon. T. IX. 1906. N. 2. p. 298—304.)
- Branth, A. V.**, Rahmsäuerung. (Milch-Ztg. Jg. XXXV. 1906. N. 16. p. 184.)
- Buttenberg, P.**, Zur Untersuchung der pasteurisierten Milch. (Ztschr. f. Unters. d. Nahrungs- und Genußmittel. Bd. XI. 1906. Heft 7. p. 377—385. 9 Fig.)

- Corini, C.**, Ma méthode d'application de ferments selectionnés à la fabrication du fromage de Grana. (Rev. gén. du lait. T. V. 1906. p. 169—172.)
- Gräff, H.**, Ueber süß-salzige Milch und ihre Wirkung in der Käserei. (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. XVI. 1906. N. 15. p. 173—174.)
- Guerbet**, Notes sur la fermentation du yoghourt. (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 10. p. 495—497.)
- Heinemann, Paul G.**, The significance of streptococci in milk. (Journ. of infect. dis. Vol. III. 1906. N. 2. p. 173—182. 3 Taf.)
- Herz, F. J.**, Die Gefährlichkeit des Rohbuttergenusses. Ein Aufriff von Prof. Emmerich. (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. XVI. 1906. N. 13. p. 148—150.)
- Jensen, Orla**, Ueber den Einfluß des Nachwärmens auf die Emmentalerkäse. (Molkerei-Ztg. Jg. XVI. 1906. N. 16. p. 183—184.)
- Kaiser, M.**, Ueber die Häufigkeit des Streptokokkenbefundes in der Milch. (Arch. f. Hyg. Bd. LVI. 1906. Heft 1/2. p. 51—89.)
- Kircher, G.**, Polizeiliche Milchrevision und ihre hygienische Bedeutung. (Centralbl. f. allg. Gesundheitspfl. Jg. XXV. 1906. Heft 3/4. p. 140—155.)
- Martin, E. E.**, The advantages and disadvantages of town versus country dairies in connection with the supply of milk. (Journ. of preventive med. Vol. XIV. 1906. N. 4. p. 226—231.)
- Müller, Paul Th.**, Ueber die Streptokokken der Milch. (Arch. f. Hyg. Bd. LVI. 1906. Heft 1/2. p. 90—107.)
- , Die Reduktionsprobe, ein Mittel zur Beurteilung des Frischezustandes der Milch. (Arch. f. Hyg. Bd. LVI. 1906. Heft 1/2. p. 108—204.)
- Reitz, Adolf**, Bakteriologische Butteruntersuchungen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. N. 7/9. p. 193—212.)
- Savage, William G.**, Streptococci and leucocytes in milk. 1. (Journ. of hyg. Vol. VI. 1905. N. 2. p. 123—138.)
- Schrott-Fiechtl, Hans**, Versuche über die Gewinnung keimarmer Milch auf der Ausstellung für Säuglingspflege in Berlin. (Molkerei-Ztg. Jg. XVI. 1906. N. 18. p. 207—208.)
- Stewart, A. H.**, A bacteriological study of the certified milk of Philadelphia. (American Journ. of the med. sc. Vol. CXXXI. 1906. N. 4. p. 625—635.)
- Trotter, A. M.**, A suggestion for general legislation for the control of the milk-supply. (Journ. of preventive med. Vol. XIV. 1906. N. 4. p. 217—225.)
- Zelenski, Thaddaeus**, Zur Frage der Pasteurisation der Säuglingsmilch. (Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. LXIII. 1906. Heft 3. p. 288—307.)

Fleisch.

- Andouard, A.**, Le nitrate de sonde dans les conserves de viande. (Journ. de Pharmac. et de chim. Année XCVII. Sér. 6. T. XXIII. 1906. N. 9. p. 417—418.)
- Fischer, August**, Ueber eine Massenerkrankung an Botulismus infolge Genusses „verdorbener“ Bohnenkonserven. (Ztschr. f. klin. Med. Bd. LIX. 1906. Heft 1. p. 58—77.)
- Gutzeit**, Beitrag zur Aetiologie der Fleischvergiftungen. (Festschr. d. Veter.-Hyg. Jg. III. 1905. Heft 6. p. 125—129; Heft 7. p. 155—161; Heft 8. p. 182—191. 9 Fig.)
- Holburn, Alfred**, Some suggestions with a view to the improvement of meat inspection in country districts. (Journ. of preventive med. Vol. XIV. 1906. N. 4. p. 232—234.)
- Kickton, A.**, Versuche über die Aufnahme von schwefeliger Säure durch in schwefeligsäurehaltiger Luft aufbewahrtes Fleisch. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußm. Bd. XI. 1906. Heft 6. p. 324—328.)
- Schüller, R.**, Ueber Projektions-Trichinenschau. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XVI. 1906. Heft 8. p. 255—262.)
- Schütze, Albert**, Ueber die Anwendung der Ablenkung hämolytischer Komplemente zum Nachweis von Fleischverfälschungen. (Med. Klinik. Jg. III. 1906. N. 18. p. 467—469.)
- Uhlenhuth**, Zur Kenntnis der gastrointestinalen Fleischvergiftungen und der biologischen Eigenschaften ihrer Erreger. (Gedenkschrift f. R. v. Lenthold. Berlin 1906. Bd. I. p. 69—99.)
- Ulrich, Samuel**, Ueber den Bakteriengehalt des Fischfleisches. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. LIII. 1906. Heft 1. p. 176—179.)
- Zupnik, Leo**, Ueber verschiedene Arten von Paratypen und Fleischvergiftungen. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. LII. 1906. Heft 3. p. 513—533.)

Wein, Weinbereitung.

- Delle, Ed.**, L'analyse des vinaigres. (Moniteur vinicole. Année LI. 1906. N. 27. p. 106.) Die chemischen Vorgänge beim Werden des Weines. (Weinbau u. Weinhandel. Jg. XXIV. 1906. N. 16. p. 149—150.)
- Kayser et Manceau**, La graisse des vins. (Moniteur vinicole. Année LI. 1906. N. 26. p. 102.)

- Manceau, E.**, Sur les caractères chimiques des vins provenant de vignes atteintes par le mildew. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLII. 1906. N. 10. p. 589—590.)
 Nochmals die Verbesserung fehlerhafter Weine und die Umgärung. (Weinbau u. Weinhandel. Jg. XXIV. 1906. N. 14. p. 125—126.)
Schmidt, Eugen, Zur Unterscheidung von Gärungsessig und Essigessenz. (Ztschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. XI. 1906. Heft 7. p. 386—391.)
Thomas, G., L'examen microscopique du vin. (Moniteur vinicole. Année LI. 1906. N. 25. p. 98.)
 Verbesserung fehlerhafter Weine und Umgärung. (Weinbau u. Weinhandel. Jg. XXIV. 1906. N. 13. p. 115—116.)

Bier, Bierbereitung.

- Das Bierbrauen in früherer Zeit. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXIII. 1906. N. 14. p. 172—175.)
Heinselmann, E., Die Erfindungen auf dem Gebiete des Pasteurisierens von Bier in geschichtlicher Darstellung. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXIII. 1906. N. 12. p. 133—136. 7 Fig.)
 —, Die Erfindungen auf dem Gebiete des Pasteurisierens von Bier in geschichtlicher Darstellung. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXIII. 1906. N. 13. p. 149—153; N. 14. p. 165—169. 57 Fig.; N. 15. p. 185—188. 67 Fig.)
 —, Die Erfindungen auf dem Gebiete des Pasteurisierens von Bier in geschichtlicher Darstellung. [Forts.] (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXIII. 1906. N. 16. p. 197—200. 80 Fig.; N. 18. p. 217—220. 102 Fig.)
Keil, H., Die im März 1906 untersuchten Biere. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXIII. 1906. N. 16. p. 203—205.)
Magerstein, Vins. Th., Laktiformol, ein neues Antiseptikum für Brennereien. (Oesterr. landw. Wchnbl. Jg. XXXII. 1905. N. 14. p. 107—108.)
B. G., Ein neues Gärgefäß. (Dtsche Brauindustrie. Jg. XXXI. 1906. N. 11. p. 126—127.)
Wahl, E. und Claussen, N. H., Ueber die Wirkung des Eisens im pasteurisierten Bier. (American Brewers Rev. Vol. XX. 1906. N. 3. p. 145. [ref. in Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXIX. p. 273.]
Vanderstichele, G., La brasserie de fermentation haute. Paris 1905. 340 p. 8°. M. Taf. 3 M. u. Fig.

Andere Nahrungsmittel.

- Bretschneider, Artur**, Ueber das Faulen der Aepfel. (Oesterr. landw. Wchnbl. Jg. XXXI. 1906. N. 43.)
Eichholz, Alkoholfreie Getränke. (Konserven-Ztg. Jg. 1906. N. 15. p. 185—186.)
 Giftige Konserven. (Konserven-Ztg. Jg. 1906. N. 13. p. 157—158.)
Harrison, F. C., The viscous fermentation of milk and beer. (Rev. gén. du lait. T. V. 1906. p. 145—147.)
Kossowicz, Alexander, Die Zersetzung des französischen Senfs durch Bakterien und deren Bekämpfung. (Zeitschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. IX. 1906. Heft 3. p. 111—116. 1 Taf.)
Nel, Les huîtres et la fièvre typhoïde. Les parcs aux huîtres de Granville. (Arch. de gén. de méd. Année LXXXIII. T. I. 1906. N. 18. p. 1117—1126.)

Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion etc.

- Christian**, Untersuchungen über die desinfizierende Wirkung des Wasserstoffsperoxyds in statu nascendi. (Hyg. Rundsch. Jg. XVI. 1906. N. 8. p. 409—413.)
Czaplewski, E., Die amtliche Desinfektorenschule an der Desinfektionsanstalt der Stadt Köln, ihre Begründung und Tätigkeit in den beiden ersten Betriebsjahren 1903 und 1904. (Centralbl. f. allg. Gesundheitspfl. Jg. XXV. 1906. Heft 3/4. p. 113—128.)
Imhoff, Die biologische Abwasserreinigung in Deutschland. (Mitt. a. d. k. Prüfungsanst. f. Wasserversorg. u. Abwässerbesit. 1906. Heft 7. p. 1—157. 36 Fig.)
Kausch, Neuerungen auf dem Gebiete der Desinfektion und Sterilisation. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXVIII. 1906. N. 4/5. p. 102—122. 28 Fig.)
Kohn, W., Die Bedeutung der Salzsäure als Mittel zur Desinfektion der Exkremente. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906. Heft 1. p. 133—138.)
Moor, C. G., Problems in practical disinfection. (Journ. of preventive med. Vol. XIV. 1906. N. 4. p. 206—216.)
Rapp, Rud., Beitrag zur Wertbestimmung chemischer Desinfektionsmittel. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906. Heft 1. p. 126—133.)
De Rechter, Une nouvelle chambre étuve à formol. (Press. méd. Belge. Année L. 1906. N. 12. p. 269—271.)

- Rubner, Max**, Untersuchungen über die Erwärmung poröser Objekte durch gesättigte Wasserdämpfe bei künstlich erniedrigter Siedetemperatur. (Arch. f. Hyg. Bd. LVI. 1906. Heft 3. p. 209—240.)
- , Die wissenschaftlichen Grundlagen einer Desinfektion durch vereinigte Wirkung gesättigter Wasserdämpfe und flüchtiger Desinfektionsmittel bei künstlich erniedrigtem Luftdruck. (Arch. f. Hyg. Bd. LVI. 1906. Heft 3. p. 241—279.)
- Schneider, Hans**, Neue Desinfektionsmittel aus Naphtolen. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. LII. 1906. Heft 3. p. 534—538.)
- , Ein Beitrag zur Kenntnis der Phenole in Verbindung mit Säuren und Gemischen mit Seifen vom chemischen und bakteriologischen Standpunkte aus. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. LIII. 1905. Heft 1. p. 116—138.)
- Schumburg**, Versuche über Händedesinfektion. (Arch. f. klin. Chir. Bd. LXXIX. 1906. Heft 1. p. 169—205.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

- A tree strangling fungus. (Journ. of the board of agric. Vol. XII. 1906. N. 11. p. 690—692. 1 Fig.)
- Aderhold, Rud.**, Der amerikanische Mehltau des Stachelbeerstrauches, eine für Deutschland neue Pflanzenkrankheit. (Landw. Ztg. f. Westfalen u. Lippe. Jg. LXIII. 1906. N. 14. p. 199—200.)
- d'Almeida, J. V.**, Notas de pathologia vegetal. (Rev. Agron. III. 1905. p. 24—28 123—127.)
- Appel, Otto**, Die Bakterien-Ringkrankheit der Kartoffel. (Flugbl. d. k. biol. Anst. f. Land- u. Forstw. N. 36. 4 p. 6 Fig.)
- Arthur, J. C.**, The part taken by Teleutospores and Aecidia in the Distribution of Maize and Cereal Rusts. (Proc. Soc. Prom. Agr. sc. 1905. p. 94—98.)
- , Rusts on Compositae from Mexico. (Bot. Gaz. Chicago. Vol. XL. 1905. p. 196—208.)
- Baur, Erwin**, Die infektiöse Chlorose der Malvaceen. (Sitzungsber. d. Preuß. Akad. Wiss. Berlin 1906. sep. Berlin (Reimer) 19 p. 8^o. 1 M.)
- Beulayque, L.**, Recherches sur la nécrobiose végétale. Corbeil 1905. 271 p. 8^o.
- Birbal, B.**, The ripening of cones of *Pinus longifolia*. — The formation of pseudo-cones or galls. (Ind. For. Vol. XXXI. 1905. p. 425—429.)
- Börner, Carl**, Die Blutlausplage und ihre Bekämpfung. (Landw. Ztg. f. Westfalen u. Lippe. Jg. LXIII. 1906. N. 16. p. 228—230.)
- Bowhill, Thos.**, Stock diseases of the Eastern Coastal Districts. (Agric. Journ. of the Cape of good hope. Vol. XXVIII. 1906. N. 4. p. 550—567. M. Fig.)
- v. Breda de Haan, J.**, Ziekte-leer der Planten. (Teysmania. Vol. VII. 1905. p. 447—459.)
- Butler, E. J.**, The wilt disease of Pigeon Pea and Pepper. (Agric. Journ. of India. Vol. I. 1906. Part 1. 5 Taf.)
- Caravonica cotton and insect pests in India. (Tropical Agricult. N. Ser. Vol. XXV. 1906. N. 7. p. 817—818.)
- Cercelet, M.**, L'Anthraxose et son traitement. (Rev. de viticult. Année XIII. 1906. N. 633. p. 133—135.)
- Chambry, J.**, Le charbon et la carie des céréales. (Rev. sc. Limousin. T. XIII. 1905. p. 170—173.)
- Cook, M. T. and Horne, W. T.**, Insects and diseases of Tobacco. English edition. (Bull. Est. Agron. Cuba. I. 1905. p. 1—23. M. Fig.)
- Decrock, E.**, Causerie sur quelques maladies cryptogamiques des plantes horticoles. (Rev. Hort. Marseille. T. LI. 1905. p. 96—101, 107—111.)
- De Candolle**, Observations tératologiques. (Bull. Trav. Soc. Bot. Genève. T. XI. 1905.)
- Deike, F. A.**, Das Absterben von Zwetschenbäumen und *Bostrichus dispar*. (Hannoversche Garten- u. Obstbau-Ztg. Jg. XVI. 1906. N. 4. p. 66—67.)
- Destructive insects in timber (*Lyctus canaliculatus*). (Journ. of the board of agric. Vol. XII. 1906. N. 10. p. 621—622.)
- Die Reblausseuche und ihre Verheerungen im Staats- und Privatvermögen. (Weinblatt. Jg. IV. 1906. N. 2. p. 5—6.)
- Dop, Paul**, Sur un nouveau champignon parasite des coccides du genre *Aspidiotus*. (Rev. mycol. Année XXVIII. 1906. N. 109. p. 18—21. 1 Taf.)
- Dubois, Ch.**, Observation de la forme asporée de l'*Oidium* de la vigne en Limousin. (Rev. Sc. Limousin. T. XIII. 1905. p. 150—153.)
- Eelworms in Mushrooms (*Tylenchus devastatrix*). (Journ. of the board of agric. Vol. XII. 1906. N. 12. p. 755—756.)
- Farneti, B.**, Una malattia delle tuberose (*Polianthes tuberosa* L.) dovuta alla *Botrytis vulgaris* Fr. (Atti R. Istit. Bot. Pavia 1905. 37 p. 2 Taf.)

- Forti, A.**, I cecidi di Notommata Wernecki Ehr. in Italia. (Atti R. istit. Venet. Sc., lett. e art. Vol. LXIV. 1905. p. 1751—1752.)
- Freeman, E. M.**, A preliminary list of Minnesota Erysipheae. (Minnes. bot. Stud. 1905. p. 423—430.)
- Froggatt, Walter W.**, Tomatoes and their diseases. (Agric. of New South Wales. Vol. XVII. 1906. P. 3. p. 209—218. 6 Fig.)
- Fuchs, Gilbert**, Der Buchenspinner (Aglia Tau L.). (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. Jg. IV. 1906. Heft 4. p. 153—156. 3 Fig.)
- Green, E. Ernest**, A note on coconuts and their enemies. (Tropical Agriculturist Colombo. N. Ser. Vol. XXV. 1905. N. 5. p. 684.)
- Grove, W. B.**, Warty disease of potatoes. (Gard. Chron. Vol. XXXVIII. 1905. p. 308.)
- Guéguen, F.**, Sur une maladie à sclérotés du collet des reines-marguerites. (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 8. p. 411—413.)
- Güssow, Hans Th.**, Ueber eine neue Krankheit an Gurken in England (Corynespora mazei, Güssow n. g. et sp. n.) (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Jg. 1906. Heft 1. p. 10—13. 5 Fig.)
- Heart rot of beed, Mangold and Swede. (Sphaerella tabifica.) (Journ. of the board of agric. Vol. XII. 1906. N. 10. p. 596—598. 1 Fig.)
- Heckel, Édouard**, Sur une variation du tubercule du Solanum maglia Schlecht. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXLI. 1905. N. 26. p. 1253—1254.)
- Hedgecock, T. T.**, A disease of cultivated Agave due to Colletotrichum. (Rep. Miss. bot. Gard. 1905. p. 149—151.)
- Heindel, R. S.**, Ecology of the Willow cone gall. (American Natural. Vol. XXXIX. 1905. p. 859—873.)
- Houard, C.**, Sur la galle du fruit de Veronica anagallis S. (Marcellia. T. IV. 1905. p. 41—51.)
- , Sur une diptéroécidie nouvelle du Daphne laureola L. (Marcellia. T. IV. 1905. p. 59—64.)
- , Les galles d'Afrique occidentale française. 1. Cécidie florale de Funtumia africana Stapf. (Marcellia. T. IV. 1905. p. 86—96.)
- Huergo, J. M.**, Enfermedad de la cebadilla, Bromus Schraderi, causada por el Ustilago bromivora. (Bol. Minist. Agr. Buenos Aires II. 1905. p. 184—186.)
- How cereals are infected with „Smut“. (Journ. of the board of agric. Vol. XII. 1906. N. 11. p. 669—670.)
- Infestation of nurseries in France by the plum weevil (Otiorrhynchus tenebrius). (Journ. of the board of agric. Vol. XII. 1906. N. 11. p. 681.)
- Kayser, E. et Manceau, E.**, Sur la maladie de la Graisse des vins. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLII. 1906. N. 12. p. 725—727.)
- Klebahn, H.**, Ueber die Botrytiskrankheit und die Sklerotienkrankheit der Tulpen, die Botrytiskrankheit der Maiblumen und einige andere Botrytiskrankheiten. Sep. aus Jahrb. d. Hamburg. wiss. Anst. Hamburg 1905. 22 p. 8°. 6 Fig. 1 M.
- Knotek, J.**, Zweiggallen von Phytoptus pini Nalepa an der Weißkiefer. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. Jg. IV. 1906. Heft 2. p. 101—102. 1 Fig.)
- Korff, G.**, Ueber die Erscheinung der Verbänderung (Fasciation). (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. IV. 1906. Heft 2. p. 16—22. 4 Fig.)
- Kováč, F.**, Beitrag zur Flechtenflora der Umgebung Saar in Mähren. (Vestn. kl. Přírod. Prostěj. Zarak. 1906. 16 p. [Tschechisch.])
- Laubert, R.**, Die Brandfleckenkrankheit eine neue Krankheit der Rosen. (Rosen-Ztg. Jg. XX. 1905. p. 19—21.)
- , Die Kräuselkrankheit des Pfirsichs und ihre Bekämpfung. [Schluß.] (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. IV. 1906. Heft 3. p. 25—28; Heft 4. p. 44—46. 1 Fig.)
- La Floresta, P.**, Ricerche sul Periderma delle palme. (Contr. biol. veg. Palermo. III, 1905.)
- Lindinger**, Harzgallen an Pinus Banksiana. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. Jg. IV. 1906. Heft 4. p. 168.)
- Ludwig, F.**, Die Aepfel und die Wohnungsmilben. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Jg. 1906. Heft 1. p. 13—15.)
- Mac Dougall, R. Stewart**, A new Enemy of the Douglas fir. (Megastigmus spermotrophus). (Journ. of the board of agric. Vol. XII. 1906. N. 10. p. 615—621. 4 Fig.)
- Mayes, W.**, Note on the Occurrence of a parasitic fungus on Pinus excelsa. (Ind. For. Vol. XXXI. 1905. p. 369—372.)
- Masseo, G. A.**, A new Orchid disease. (Gard. chron. T. XXXVIII. 1905. p. 153.)
- , Cactus scab. (Gard. chron. T. XXXVIII. 1905. p. 125.)
- Maxwell, Lefroy H.**, The insect-pests of Cotton in India. (Agric. Journ. of India. Vol. I. 1906. Part. 1. 4 Taf.)
- Neblich**, Stenolechia gemella L. und Pamene splendidulana Gn. Zwei Kleinschmetterlinge auf Eichen. (Forstwissenschaft. Centralbl. Jg. XXVIII. 1906. Heft 4. p. 195—197. 1 Taf.)

- Niezabitowski, E. L.**, Beiträge zur Zooecidiologie Galiziens. (Spraw. Kom. fizyogr. Akad. Krakow. XXXVIII. 1905. p. 58—63. [Polnisch.]
 —, Materyaly do zooecidiologii Galicyi. (Kraków, Spraw. kom. fizyogr. 38, 1905. p. 126—141.)
- Noack, F.**, Berichte über einzelne Pflanzenkrankheiten. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XV. 1905. Heft 6. p. 356—359.)
- Noël, P.**, La maladie, rouge des feuilles du fraisier. (Mon. hort. 1905. p. 152.)
- v. Oven, Ernst**, Eine neue Bakterienerkrankung der Leguminosenfrüchte. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. N. 1/3. p. 67—74. 1 Taf.)
- Osterwalder, A.**, Die Sclerotienkrankheit bei den Forsythien. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XV. 1905. Heft 6. p. 321—329. 1 Taf.)
- Peglion, V.**, Intorne al mal dello sclerozio della Bietola. (Accad. sc. med. nat. Ferrara. 1905. 4 p. 1 Taf.)
 —, Alterazioni delle castagne, cagionate della Bietola. (Accad. sc. med. e nat. Ferrara 1905. 4 p. 1 Taf.)
 —, La rogna o tubercolosi del Nerium oleander. (Atti R. Accad. Lincei. T. CCCII. 1905. p. 462—463.)
- Ravas, L. et Roos, L.**, Contribution à l'étude du rougeot de la vigne. (Ann. de l'école nat. d'agricult. de Montpellier. N. Sér. T. V. 1906. Fasc. 3. p. 235—255. 1 Taf.)
- Beh, Insekten** an Zuckerrüben. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XV. 1905. Heft 6. p. 359—361.)
- Rothe, H. H.**, Der Engerlingsfraß in den norddeutschen Kiefernforsten. (Forstw. Centralbl. Jg. XXVIII. 1906. Heft 2. p. 65—81.)
- Rübsaamen, H.**, Beiträge zur Kenntnis außereuropäischer Zooecidien. (Marcellia. T. IV. 1905. p. 5.)
- Salmon, E. S.**, The present danger threatening gooseberry growers in England. (Gard. Chron. 1905. 4 p.)
- Sch.**, Die Anthraknose und ihre Behandlung. (Die Weinlaube. Jg. XXXVIII. 1906. N. 6. p. 61—62.)
- Schiffner, Viktor**, Neue Mitteilungen über Nematoden — Gallen auf Laubmoosen. (Hedwigia. Bd. XLV. 1906. Heft 3. p. 159—172. 5 Fig.)
- Schouteden, H.**, Un nouvel ennemi du Cacaoyer en Afrique. (Ann. de la soc. entomol. T. L. 1906. N. 1. p. 37—39.)
- Soraauer, P.**, Erkrankung von *Cereus nyccticalis* Lk. (Ztschr. Pflanzenkrankh. Jg. 1906. Heft 1. p. 5—10. 1 Taf.)
- Stebbing, E. P.**, On the Cecidomyid forming the galls or pseudo-cones on *Pinus longifolia*. (Ind. For. Vol. XXXI. 1905. p. 429—434. 1 Taf.)
- Strachman, J.**, Occurrence of the Fungus *Peziza* in Ireland. (Irish Natural. Vol. XIV. 1905. p. 185—187. 1 Taf.)
- Strohmeier**, *Oberea linearis* L., ein Schädling des Wallnußbaumes. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. IV. 1906. Heft 4. p. 156—158.)
- Tavares, J. da Silva**, Synopse das Zooecidias portuguezas. (Broteria. IV. 1905. 123 p. 14 Taf.)
- Tavares, J. S.**, 2. contribucao para e estudo das Zooecidias da ilha de Madeira. (Revista de Cecidologia 1903—1904. Broteria. Vol. IV. 1905. Fasc. 4.)
- The turnip mud-beetle (*Helophorus rugosus*). (Board of agricult. and fish. Leaflet 1905. N. 143. 2 p. 3 Fig.)
- The felted beech coccus (*Cryptococcus fagi*). (Board of agricult. and fish. Leaflet. 1905. N. 140. 4 p. 3 Fig.)
- Theobald, Fred. V.**, Insect pests of the cotton plant. (Nature. Vol. LXXII. 1906. p. 257—258. 2 Fig.)
- Trotter, A.**, Alcune notizie sulle „noci di galla“ del commercio. (Marcellia. Anno III. 1905. p. 146—151.)
- Turnips attacked by *Centorhynchus* beetle. (Journ. of the board of agric. Vol. XII. p. 738—739.)
- Ulrichs**, Schaden durch Getreiderost. (Ill. landw. Ztg. Jg. XXVI. 1906. N. 20. p. 178—179.)
- Vaccari, P.**, Di un nuovo entomocecidio che determina la sterilità dei fiori pistilliferi della canapa. (Bull. d. soc. bot. Ital. 1905. N. 3/4. p. 87—94. 15 Fig.)
- Viala, P. et Pacottet, P.**, Recherches sur l'antracnose. Chancre d'automne. (Forts.) (Rev. de viticult. T. XXV. 1906. N. 632. p. 89—91. 4 Fig.)
- Vieweg, Louis**, Zur Krankheit der Begonie Gloire de Lorraine. (Handelsblatt f. d. dtchn. Gartenbau. Jg. XXI. 1906. N. 6. p. 49.)
- Violet root-rot (*Rhizoctonia violacea*). (Journ. of the board of agric. Vol. XII. 1906. N. 11. p. 667—668 1 Taf.)

- Widmer, B.**, Ueber Erkrankungen und Beschädigungen der Obstgewächse und Gemüse. (Der Obstgarten. 1906. N. 4. p. 49—51.)
- Wittmack, L.**, Kritischer Bericht über L. R. Jones, Disease resistance of potatoes. (Ztschr. f. Spiritusind. Jg. XXIX. 1906. N. 16. p. 141—142.)
- Zederbauer, G. E.**, Fichtenkrebs. (Centralbl. f. d. ges. Forstwesen. Jg. XXXII. 1906. Heft 1. p. 1—5. 4 Fig.)
- Zederbauer, E.**, Moose und Flechten in den Versuchsbeständen im Großen Föhrenwalde. (Centralbl. f. d. ges. Forstwesen. Jg. XXXII. 1906. Heft 4. p. 165—175. 1 Fig.)

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

- Antidin, ein neues Reblausbekämpfungsmittel. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXII. 1905. N. 50. p. 503.)
- Bear, William E.**, Spraying mixtures. (Journ. of the board of agric. Vol. XII. 1906. N. 11. p. 660—666.)
- Bericht über vergleichende Versuche betr. die Wirkung von Dufourscher Lösung, Markasol und „Baumschutz“ nebst einigen allgemeinen Bemerkungen über die Prüfung von Pflanzenschutzmitteln. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. IV. 1906. N. 3. p. 28—32.)
- C. R.**, Les tirs contre la grêle. (Rev. de viticult. Année XIII. 1906. T. XXV. N. 629. p. 22—23.)
- Cercolet, M.**, Traitements anticryptogamiques préventifs. (Rev. de viticult. Année XII. T. XXIV. 1905. N. 628. p. 729—731.)
- C. R.**, La défense contre la grêle en Côte-d'Or. (Rev. de viticult. Année XIII. T. XXV. 1906. N. 638. p. 273—274.)
- Czadek**, Briests Mäusetabletten. (Wiener landw. Ztg. 1905. N. 62.)
- , Die Saatkornbeizen der Sächsischen Viehnährmittelfabrik. (Wiener landw. Ztg. 1905. N. 65.)
- , Ein neues Reblausbekämpfungsmittel. (Wiener landw. Ztg. 1905. N. 88.)
- Dern**, Maßregeln gegen die Reblaus. (Weinbau u. Kellerwirtschaft. Beibl. z. Weinblatt. 1906. N. 3. p. 9—10.)
- Dewitz, J.**, Ueber die Bekämpfungsmethoden, welche in Frankreich gegen die beiden Traubenmotten *Cocylis ambiguella* und *Endemis botrana* in Anwendung kommen. (Mitt. über Weinbau und Kellerwirtsch. Jg. XVIII. 1906. N. 1. p. 7—13.)
- Dosch, L.**, Die Reblausbekämpfung. Irrtümliche Auffassungen und Annahmen bei der Reblausbekämpfung im Deutschen Reiche und die sich daraus ergebenden Folgen. Nebst Abdr. d. deutschen Reblausgesetze. Gießen (Roth) 1906. 47 p. 8°. M. Fig. 1 M.
- Eger, E.**, Untersuchungen über die Methoden der Schädlingsbekämpfung und über neue Vorschläge zu Kulturmaßregeln für den Weinbau. Berlin (Parey) 1905. IV, 86 p. 8°. 2 M.
- Faes, H.**, Traitements d'hiver contre l'acariose (court-noué). (Chronique agric. du canton de Vaud. Année XIX. 1906. N. 3. p. 43—48.)
- Froggatt, Walter W.**, The effects of fumigation with hydrocyanic gas upon ladybird beetle larvae and other parasites. (Agricult. Gaz. of New South Wales. Vol. XVI. 1905. P. 11. p. 1088—1089.)
- Fumigation with hydrocyanic acid gas. (Journ. of the board of agricult. Vol. XII. 1905. N. 8. p. 496—498.)
- Geheimmittel zur Bekämpfung von Rebenkrankheiten. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXIII. 1906. N. 11. p. 106—107.)
- Gescher, Cl.**, Die Hauptsache in der Schädlingsbekämpfung. (Weinbau u. Weinhandel. Jg. XXIV. 1906. N. 14. p. 133—134.)
- J. B.**, Erbsen- und Bohnenkäfer zur Bekämpfung. (Gartenflora. Jg. LV. 1906. Heft 8. p. 217.)
- Karmann, W.**, Ein Beitrag zur Herstellung der Kupferkalk- oder Bordelaiser Brühe. (D. dtische Gartenrat. Jg. IV. 1906. N. 151. p. 49—50.)
- Köck**, Erhöhung der Widerstandsfähigkeit unserer Kulturpflanzen als Mittel gegen Pflanzenkrankheiten. (Wiener landw. Ztg. 1905. N. 97.)
- Köck, Gustav**, Gegen den Gitterrost. (Oesterr. landw. Wchnbl. Jg. XXXII. 1906. N. 4. p. 29.)
- Korff**, Eine neue Methode zur Bekämpfung der Feldmäuse. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. IV. 1906. N. 3. p. 32—34.)
- Laubert**, Pflanzenschutz in England. Welche Maßnahmen werden in England zur Bekämpfung der Krankheiten und Beschädigungen der Kulturpflanzen empfohlen? [Sammelref.] (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. III. 1905. Heft 11. p. 126—129; Heft 12. p. 140—146.)
- Mey, F.**, Baumschutz und Tuv contra Blutlaus und Genossen. (D. Dtsche Gartenrat. Jg. IV. 1905. N. 146. p. 9—11.)

- Natural enemies of insect pests. (Journ. of the board of agric. Vol. XII. 1906. N. 11. p. 689—690.)
- Bougier, L.**, Expériences contre le black-rot dans la Loire. (Rev. de viticult. Année XII. T. XXIV. 1905. N. 628. p. 713—719.)
- Schander, E.**, Anwendung und Wirkung der Kupfervitriolkalkbrühe. Bordeauxbrühe. Sammelreferat. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. Jg. IV. 1906. Heft 4. p. 183—186.)
- Spitz, L.**, Zur Bekämpfung des Frostspanners. (Wchnbl. d. landw. Vereins i. Großh. Baden. 1906. N. 7. p. 92.)
- The novar system of combating larch disease. (Journ. of the board of agric. Vol. XII. 1906. N. 12. p. 722—725.)
- Thomann**, Die naturgemäßen Mittel zur Bekämpfung der Engerlinge. (Schweizer. landw. Ztschr. Jg. XXXIV. 1906. Heft 16. p. 413—415.)
- Villemoes, Niels**, Ausrottung der Rinderbieflye unter Mitwirkung der Meiereigenossenschaften. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XVI. 1906. Heft 7. p. 226—228.)
- Wahl, Bruno**, Vertilgung von *Anthomyia brassicae*. (Oesterr. landw. Wchnbl. Jg. XXXII. 1906. N. 4. p. 28.)
- Die Bekämpfung der Wühlmäuse (*Arvicola*). (Oesterr. landw. Wchnbl. Jg. XXXII. 1906. N. 5. p. 37.)
- Wibmer**, Ueber die Möglichkeit, Insekten in Aepfeln und Birnen direkt zu verfolgen. (Der Obstgarten. 1906. N. 1. p. 7—9.)
- Wilfarth, H., Boemer, H. und Wimmer, G.**, Ueber die Vertilgung der Nematoden durch Behandlung des Bodens mit Schwefelkohlenstoff und deren Wirkung auf die Zuckerrüben. (Ztschr. d. Ver. d. Dtschn. Zuckerrind. Lief. 600. 1906. p. 1—18.)
- Zschokke, A.**, Anwendung des Schwefelkohlenstoffes im Weinbaubetriebe. [Schluß] (Weinbau u. Kellerwirtschaft. Jg. III. 1905. N. 53. p. 21—24.)

Corrigendum.

In dem Referat von Buchner, Ed. und Antoni, W. in No. 7/9 des Centralbl. f. Bakt. II. Abt. p. 232 muß es im Titel heißen: „Existiert ein Koenzym für die Zymase?“ statt „Existiert ein Enzym für die Zymase?“

Inhalt.

- Zusammenfassende Uebersichten.**
- Maurizio, A.**, Die Gärung des Mehlteiges, p. 513.
- Originalreferate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.**
- Aus dem Institut für Gärungsgewerbe, Berlin.
- Hayduck, Fritz**, Ueber die Bedeutung des Eiweiß im Hefeleben, p. 524.
- Lange, H.**, Die Anwendung des Formaldehyds in Dickmaischbrennereien, p. 524.
- Aus dem chemischen Laboratorium der Königl. Landwirtschaftlichen Hochschule, Berlin.
- Buchner, E. und Gaunt, E.**, Neue Versuche über die Oxydase der Essigbakterien, p. 525.
- Bakteriologisches Laboratorium der schweiz. landw. Versuchs- u. Untersuchungsanstalten Liebefeld.
- Thöni, J.**, Ueber nachträgliche Blähungen in Emmentalerkäsen, p. 526.
- K. k. landw.-chem. Versuchsst. Görz.
- Bolle, Johann**, Tätigkeitsbericht der k. k. landwirtschaftlich-chemischen Versuchstation in Görz im Jahre 1905, p. 529.
- Originalreferate aus den Sitzungen gelehrter Gesellschaften.**
- Physiologische Gesellschaft zu Berlin**, Sitzung vom 16. Februar 1906, p. 530.
- Buchner**, Ueber den Nachweis von Enzymen in Mikroorganismen, p. 530.
- Gesellschaft amerikanischer Bakteriologen**, p. 535.
- Esten, W. M.**, Milchsäurebakterien, p. 536.
- Harding, H. A. und Frucha, M. E.**, Absorbierende Baumwolle als ein Mittel zur Verbreitung von *Pseudomonas radicola*, p. 539.
- Harrison, J. C.**, Bemerkungen über Klassenräume und Laboratoriumsarbeit, p. 540.
- Heinemann, P. G.**, Bakterienarten, die beim Sauerwerden der Milch beteiligt sind, p. 538.
- Kellermann, Karl F. und Beckwith, T. D.**, Die Bakterien der Wurzelknötchen der Leguminosen, p. 540.

- Prescott, S. C.**, Bemerkung über die Indol erzeugenden Bakterien. (Vorl. Mitteilung), p. 539.
- Russell und Hastings**, Störungen in der Käsebildung, veranlaßt durch Laktose zerlegende Hefearten, p. 535.
- Slack, Francis H.**, Die mikroskopische Schätzung der Bakterien in der Milch, p. 537.
- Ward, Archibald, R.**, Quantitative Bestimmung von Leukocyten in Milch, p. 537.

Referate.

- Barthel, Chr.**, Bidrag till kannedomen om mjölksyrebakteriernas förekomst och utbredning utom mjölken, p. 550.
- Blumenthal und Wolf**, Beitrag zur Milchgärung, p. 549.
- Brefeld, Oskar und Falck, Richard**, Die Blüteninfektion bei den Brandpilzen und die natürliche Verbreitung der Brandkrankheiten, p. 572.
- Dewitz, J.**, Beobachtungen, die Biologie der Traubenmotte *Cochylis ambiguella* Hübn. betreffend, p. 579.
- Fischer, Eduard**, Ueber den Wirtwechsel bei den parasitischen Pilzen, p. 567.
- Guénaux, G.**, Entomologie et parasitologie agricoles, p. 578.
- Henneberg, W.**, Bakteriologische Untersuchungen in der Schnellseigfabrik, sowie Anreicherungs- und Säuerungsversuche mit Schnellseigbakterien, p. 551. —, Versuche über die Widerstandsfähigkeit der verschiedenen Kartoffelsorten gegen Fäulnisbakterien, p. 570.
- Houard, C.**, Sur l'accentuation des caractères alpins des feuilles dans les galles des *Genévriers*, p. 578.
- Hunger**, Untersuchungen und Betrachtungen über die Mosaikkrankheit der Tabakspflanze, p. 568.
- Kossowitsch**, Die Kleemüdigkeit des Bodens, p. 563.
- Lafar**, Handbuch der Technischen Mykologie, p. 541.
- Laxa**, Ueber die Einwirkung der Milchsäure auf Kasein und Parakasein, p. 548.
- Lussana, Filippo**, Sulla viscosità del latte, p. 551.
- Magnus, Paul**, *Sclerotinia Crataegi*, p. 577.
- Malenkowitsch**, Einige Daten über die Vergärbarkeit des Xylans, p. 556.
- Maublanc, A.**, *Trichoseptoria fructigena* nov. sp., p. 570.
- Meyer, Arthur**, Ueber Kugelbildung und Plasmoptyse der Bakterien, p. 541.
- Mitscherlich, Eilh. A.**, Bodenkunde für Land- und Forstwirte, p. 556.
- Molliard, M.**, Une *Coléopteroécidie* nouvelle sur *Salix caprea*, type de *cécidies facultatives*, p. 578.
- Nüsslin**, Der Fichtenborkenkäfer *Tomicus*

typographus L. im Jahre 1905 in Herrenwies und Pfullendorf, p. 581.

- Parow, E.**, Untersuchung gefrorener Kartoffeln (Chuño) aus Bolivien, p. 564.
- Salmon, E. S.**, Further Cultural Experiments with „biologie forms“ of the *Erysiphaecae*, p. 572.
- Smith, Erwin F.**, Bacteria in relation to plant diseases, p. 565.
- Spaulding, Perley**, A disease of black oaks caused by *Polyporus obtusus* Berk., p. 577.
- Thiele, R.**, Die Verarbeitung des atmosphärischen Stickstoffs durch Mikroorganismen, p. 557.
- Ward, H. Marshall**, Recent researches on the Parasitism of Fungi, p. 565.
- Warmbold**, Untersuchungen über die Biologie stickstoffbindender Bakterien. — Ein Beitrag zur Kenntnis der Veränderungen im Stickstoffgehalte des unbauten Ackerbodens, p. 560.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

- Brazzola, Floriano**, Significato dei batteri termofili, di quelli della putrefazione e del gruppo coli, nell' esame batteriologico delle acque, p. 582.

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

- Bokorny, Th.**, Beobachtungen über die Giftmengen, welche zur Tötung einer bestimmten Menge lebender Substanz nötig ist, p. 583.
- , Quantitative Wirkung der Gifte, p. 585.
- Chuard, E. et Forchet, F.**, Recherches sur l'adhérence comparée des solutions de verdet neutre et des bouillies cupriques, employées dans la lutte contre le mildiou, p. 593.
- Eger**, Untersuchungen über die Methoden der Schädlingsbekämpfung und über neue Vorschläge zu Kulturmaßregeln für den Weinbau, p. 595.
- Henneberg, W.**, Die im lagernden Essig lebenden Organismen und die bei der Pasteurisierung des Essigs anzuwendenden Temperaturen, p. 591.
- Hewlett**, An experimental investigation of the preservation of milk, p. 590.
- Huntemüller, O.**, Vernichtung der Bakterien im Wasser durch Protozoen, p. 589.
- Siegfeld**, Untersuchungen über die Präservierung von Milchproben, p. 590.
- Wilfarth, Roemer und Wimmer**, Ueber die Vertilgung der Nematoden durch Behandlung des Bodens mit Schwefelkohlenstoff und deren Wirkung auf die Zuckerrübe, p. 594.

Neue Litteratur, p. 595.

Corrigendum p. 607.

Nachdruck verboten.

Ueber den Einfluss der Stoffwechselprodukte auf das Wachstum der Bakterien.

[Aus dem milchwirtschaftlichen Laboratorium des landwirtschaftlichen Instituts in Göttingen.]

Von Dr. Otto Rahn.

(Schluß.)

Tabelle XIII.

Durchlüftungsversuch II.
28° C.

Geimpft mit einer 16-stündigen Bouillonkultur von *Bacillus fluorescens*, bei 28° in einer Probe derselben Bouillon gewachsen, die zu dem eigentlichen Versuch benutzt wurde.

| | Erlenmeyerkolben Watteverschluss | do., durchlüftet | do., CO ₂ durchgeleitet |
|----------------|-------------------------------------|---|---------------------------------------|
| am Anfang | 85 300 | 85 300 | 85 300 |
| nach 2 Stunden | 150 000 | 210 000 | 50 000 |
| " 4 " | 720 000 | 790 000 | 160 000 |
| " 6 " | 4 560 000 | 5 300 000 | 120 000 |
| " 8 " | 14 000 000 | 26 000 000 | 140 000 |
| " 10 " | 32 000 000 | 122 000 000 | 130 000 |
| " 12 " | 65 000 000 | 97 000 000 | 160 000 |
| " 24 " | 683 000 000 | 261 000 000 | 1 620 000 |
| | Von der 24. Stunde durchlüftet | Von der 24. Stunde ohne Durchlüftung | |
| " 27 " | 358 000 000 | 410 000 000 | — |
| " 30 " | ca. 300 000 000 | 521 000 000 | — |
| " 72 " | — | — | 22 000 000 |

Generationsdauer.

| | I | II | III |
|-----------------|----------|---------|------------|
| von 0—2 Stunden | 147 Min. | 92 Min. | } 720 Min. |
| " 2—4 " | 53 " | 63 " | |
| " 4—6 " | 45 " | 45 " | |
| " 6—8 " | 74 " | 42 " | |
| " 8—10 " | 101 " | 54 " | |
| " 10—12 " | 127 " | — " | } 216 " |
| " 12—24 " | 212 " | 504 " | |
| " 24—27 " | ∞ | 276 " | } 765 " |
| " 27—30 " | ∞ | 521 " | |

Der nächste Versuch zeigt den Einfluß verschiedener Sauerstoffpartialdrucke auf die Entwicklung der Bakterien. Die zur Durchleitung benutzten Gase bestanden aus einem Gemenge von Luft und Kohlensäure. Auch in diesen Versuchen zeigt sich die anfängliche Wachstumsverzögerung sehr typisch. Vielleicht ist diese Verzögerung nicht auf Sauerstoffmangel, sondern auf einen schädigenden Einfluß der Kohlensäure zurückzuführen. Daher wurden bei den folgenden Versuchen Gemenge von Luft mit Stickstoff angewendet.

Tabelle XIV.
Durchlüftungsversuch III.

| | Nicht durchlüftet (21 Proz. O) | Luft, verdünnt mit CO ₂ Durch- lüftung mit Gas von 17 Proz. Sauerstoff | Durch- lüftung mit Gas von 14 Proz. Sauerstoff |
|----------------|--------------------------------------|--|--|
| am Anfang | 9200 | 9200 | 9200 |
| nach 2 Stunden | 11 000 | 3200 | 8300 |
| „ 4 „ | 17 600 | 13 300 | 5300 |
| „ 6 „ | 44 900 | 27 500 | 8300 |
| „ 8 „ | 210 000 | 100 000 | 21 000 |
| „ 10 „ | 3 480 000 | 110 000 | 30 000 |
| „ 12 „ | 7 600 000 | 1 270 000 | 180 000 |
| „ 22 „ | 125 000 000 | 71 000 000 | 40 000 000 |
| „ 25 „ | | Luft- durchleitung | Durchleitung von Gas mit |
| „ 28 „ | | 92 000 000 | 17 Proz. O |
| | | 181 000 000 | 72 000 000 |
| | | | 119 000 000 |

Generationsdauer.

| | 21 Proz. O | 17 Proz. O | 14 Proz. O |
|-----------------|------------|------------|------------|
| von 0—2 Stunden | 443 Min. | ∞ | ∞ |
| „ 2—4 „ | 195 „ | 226 Min. | ∞ |
| „ 4—6 „ | 86 „ | 117 „ | 186 Min. |
| „ 6—8 „ | 54 „ | 64 „ | 90 „ |
| „ 8—10 „ | 30 „ | 87 „ | 233 „ |
| „ 10—12 „ | 103 „ | 34 „ | 47 „ |
| „ 12—22 „ | 149 „ | 103 „ | 77 „ |
| „ 22—25 „ | — | 482 „ | 212 „ |
| „ 25—28 „ | — | 184 „ | 248 „ |

Beim folgenden Versuch wurde der Luftsauerstoff nicht mit Kohlen-
säure, sondern mit Stickstoff verdünnt.

Tabelle XV.
29°.

| | undurch- lüftet | Luft, verdünnt m. Stickstoff 17,7 Proz. O | 18,6 Proz. O |
|----------------|--------------------|--|--------------|
| am Anfang | 400 000 | 15 800 | 33 800 |
| nach 2 Stunden | 280 000 | 15 000 | 30 000 |
| „ 4 „ | 240 000 | 18 000 | 38 400 |
| „ 6 „ | 810 000 | 80 000 | 90 000 |
| „ 8 „ | 2 610 000 | 490 000 | 730 000 |
| „ 10 „ | 10 000 000 | 1 360 000 | 2 500 000 |
| „ 12 „ | 29 000 000 | 3 830 000 | 9 800 000 |

Generationsdauer.

| | 21 Proz. O | 17,7 Proz. O | 18,6 Proz. O |
|-----------------|------------|--------------|--------------|
| von 0—2 Stunden | ∞ | ∞ | ∞ |
| „ 2—4 „ | ∞ | 456 Min. | 337 Min. |
| „ 4—6 „ | 68 Min. | 56 „ | 08 „ |
| „ 6—8 „ | 71 „ | 46 „ | 40 „ |
| „ 8—10 „ | 62 „ | 81 „ | 68 „ |
| „ 10—12 „ | 78 „ | 80 „ | 61 „ |

Nach all diesen Durchlüftungsversuchen kann die anfängliche Wachstumsverzögerung nicht auf einen schädigenden Einfluß des Sauerstoffs in frischer Bouillon zurückgeführt werden. Es bleibt als letzter Unterschied zwischen zersetzter Bouillon und deren Tonfiltrat nur noch der Bakteriengehalt. Die Bakterien selbst oder nicht filtrierbare Bestandteile müssen die Wachstumsgeschwindigkeit beeinflussen. Es sind verschiedene Möglichkeiten denkbar: Es können die lebenden Bakterien so wirken, es können auch in der Kulturflüssigkeit Stoffe ausgeschieden sein, die das Tonfilter nicht passieren, aber doch auf die Zellen einwirken. Es können auch die Endoenzyme der Bakterien irgend einen Einfluß ausüben. Zur Prüfung dieser Vermutungen wurden drei Bouillonkolben, in welchen sich *Bac. fluorescens* im kräftigsten Entwicklungsstadium befand, auf verschiedene Weise sterilisiert. Kolben I durch $\frac{1}{4}$ -ständiges Erhitzen auf 70—75°, Kolben II durch Chloroform, Kolben III durch Aether. Die Sterilität wurde durch wiederholte Abimpfungen festgestellt. Dann wurden die Kolben mit einer 20-stündigen Kultur von *Bac. fluorescens* in Bouillon von der gleichen Probe geimpft.

| Bakterienzahl kurz vor der Sterilisation | I 6 600 000 000 | II 4 400 000 000 | III 5 400 000 000 |
|--|--------------------|---------------------|----------------------|
| Abimpfung nach 24 Stunden | steril | steril | steril |
| " " 48 " | " | " | " |
| " " 96 " | " | " | " |
| " " 144 " | " | " | " |
| (kurz vor der neuen Impfung) | | | |

Ein vierter mit CS_2 behandelter Kolben mit 4 600 000 000 Keimen pro ccm war nach 48 Stunden noch nicht steril, nach 96 steril, begann aber einen braunroten Farbstoff zu bilden und trübte die Bouillon stark durch Ausscheidung von Schwefel; dieser Kolben wurde nicht benutzt. Bei mehreren Wiederholungen gelang es überhaupt nicht, mit CS_2 zu sterilisieren.

Tabelle XVI. Temperatur 24°.

| | erhitzt | mit Chloroform sterilisiert | mit Aether sterilisiert |
|----------------|---------------|-----------------------------|---|
| am Anfang | 295 | 818 | 279 |
| nach 6 Stunden | 4 400 | 20 700 | 0 |
| " 12 " | 66 800 | 640 000 | 0 |
| " 24 " | 60 000 000 | 58 000 000 | 0 |
| " 48 " | 4 800 000 000 | 5 200 000 000 | 0 |
| " 96 " | 2 400 000 000 | 3 300 000 000 | 0 |
| | | | Nach 96 Stunden wurde nochmals mit 37 Bakterien pro ccm geimpft. Nach 6 Stunden war kein lebender <i>Bacillus</i> nachzuweisen. |

Generationsdauer.

| | | |
|--------------|---------|---------|
| von 0—6 Std. | 92 Min. | 74 Min. |
| 6—12 " | 92 " | 73 " |
| 12—24 " | 73 " | 111 " |
| 24—48 " | 228 " | 222 " |

Dieser Versuch zeigt keine anfängliche Wachstumsverzögerung. Die Vermehrungsgeschwindigkeit ist in den ersten 24 Stunden annähernd 39*

konstant. Da dieser Versuch sich von den anderen mit Tonfiltraten nur dadurch unterscheidet, daß hier die toten Bakterien noch in der Lösung sind, während sie dort entfernt waren, so muß die Ursache des konstanten Wachstums in den toten Bakterien bzw. in ihren Endoenzymen beruhen. Deshalb wurde ein zweiter Versuch angestellt, bei welchem durch Erhitzen auf 100° die Enzyme zerstört wurden. Dieser Versuch zeigt ferner, ebenso wie der vorhergehende, daß das Aufhören des Wachstums nicht auf einer Anhäufung der gewöhnlichen Stoffwechselprodukte, wie Pepton, Ammoniak etc. beruht, da diese durch Erhitzen nicht verändert werden.

Tabelle XVII.

Bouillon mit *B. fluorescens* bei 27° 40 Stunden gehalten, dann sterilisiert.

| | Kontrollkolben frische Bouillon | 1/4 Stunde auf 100° erhitzt | 20 Stunden auf 68° erhitzt |
|--|------------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Bakterienzahl vor der Sterilisation | — | 2 200 000 000 | 2 000 000 000 |
| Geprüft nach 24 Stunden | — | steril | steril |
| Neue Impfmenge | 114 000 | 100 000 | 37 000 |
| Nach 2 Stunden | 170 000 | 300 000 | 70 000 |
| „ 6 „ | 340 000 | 1 620 000 | 650 000 |
| „ 12 1/4 „ | 17 000 000 | 31 000 000 | 16 000 000 |
| „ 24 1/4 „ | 560 000 000 | 760 000 000 | 800 000 000 |

Generationsdauer.

| | Kontrollkolben | 100° | 68° |
|-------------------|----------------|---------|----------|
| von 0— 2 Std. | 208 Min. | 76 Min. | 135 Min. |
| „ 2— 6 „ | 240 „ | 99 „ | 76 „ |
| „ 6—12 1/4 „ | 67 „ | 89 „ | 82 „ |
| „ 12 1/4—24 1/4 „ | 143 „ | 156 „ | 128 „ |

Die Konstanz der Wachstumsgeschwindigkeit ist in Anbetracht des kleinen anfänglichen Zeitraums und der Ungenauigkeit der Zählungen immerhin auffallend und kontrastiert stark gegen die bei dem Kontrollkolben erhaltenen Werte. Selbst eine 10 Monate alte Bouillonkultur, die schon ziemlich eingetrocknet war, zeigte nach 5 Minuten langem Erhitzen auf 100° eine anfangs konstante Generationsdauer; die frische Bouillon war von einer anderen Probe, da kein Kolben zu Vergleichszwecken aufbewahrt war.

Tabelle XVIII.

| | Bouillon frisch | Bouillon, 10 Monate zersetzt |
|----------------|--------------------|------------------------------------|
| Am Anfang | 790 000 | 940 000 |
| Nach 5 Stunden | 3 170 000 | 5 150 000 |
| „ 10 „ | 40 000 000 | 23 000 000 |
| „ 24 „ | 640 000 000 | 25 000 000 |

Generationsdauer.

| | frisch | zersetzt |
|--------------|----------|----------|
| Von 0—5 Std. | 150 Min. | 122 Min. |
| „ 5—10 „ | 82 „ | 139 „ |
| „ 10—24 „ | 210 „ | 699 „ |

Aus allen diesen Versuchen können wir die Resultate kurz folgendermaßen zusammenfassen: *Bacillus fluorescens liquefaciens* wächst nach der Uebertragung in frische Nährlösung in den ersten Stunden langsamer als einige Zeit darauf; oft ist sogar ein Rückgang in der Keimzahl zu bemerken. Diese anfängliche Wachstumsverzögerung ist nur in ganz geringem Grade abhängig vom Alter des Impfmateri- als und von der Sauerstoffspannung in der Nährlösung. Die maximale Vermehrungsgeschwindigkeit bezw. die minimale Generationsdauer tritt ein bei einer bestimmten Konzentration eines kochfesten, durch Ton nicht filtrierbaren Stoffes, der von den Bakterien selbst während des Wachstums erzeugt wird. Damit stimmt überein, daß die Wachstumshemmung um so schneller überwunden wird, je größer die Impfmenge ist. Für das mehrfach beobachtete Absterben der frisch übergeimpften Bakterien habe ich keine Erklärung.

Genauere Untersuchungen sind mir leider nicht möglich gewesen, da ich die Arbeit infolge meines Ausscheidens aus dem Göttinger bakteriologischen Laboratorium abbrechen mußte. Daß diese Ergebnisse nicht ohne weiteres auch für andere Bakterien gelten, zeigen zwei Versuche mit *Bacterium coli*.

Tabelle XIX.
Bacterium coli. 27°.

| | frische Bouillon | 2-tägige Kultur 2 Min. 100° |
|----------------------|------------------|--------------------------------|
| Am Anfang | 16 600 | 40 400 |
| Nach 2 Stunden | 39 200 | 110 000 |
| „ 4 „ | 100 000 | 250 000 |
| „ 7 $\frac{1}{2}$ „ | 5 000 000 | 3 000 000 |
| „ 9 $\frac{1}{3}$ „ | 38 000 000 | 22 000 000 |
| „ 25 $\frac{1}{2}$ „ | 700 000 000 | 190 000 000 |

Generationsdauer.

| | frisch | zersetzt |
|--|---------|----------|
| Von 0 — 2 Std. | 97 Min. | 66 Min. |
| „ 2 — 4 „ | 71 „ | 101 „ |
| „ 4 — 7 $\frac{1}{2}$ „ | 37 „ | 59 „ |
| „ 7 $\frac{1}{2}$ — 9 $\frac{1}{3}$ „ | 41 „ | 42 „ |
| „ 9 $\frac{1}{2}$ — 25 $\frac{1}{2}$ „ | 228 „ | 346 „ |

Während dieser Versuch sowohl bei der frischen wie bei der zersetzten Bouillon ein deutliches Minimum der Generationsdauer zeigt, ist beim folgenden Versuch nur bei der zersetzten Nährlösung eine Wachstumshemmung bemerkbar, also gerade das Gegenteil von den bei *B. fluorescens* gemachten Beobachtungen. Freilich ist dieser Versuch nicht sehr beweiskräftig, da nur 4 Zählungen gemacht sind.

Tabelle XX.
Bacterium coli. 27°.

| | frische Bouillon | 4-tägige Kultur 2 Min. 100° |
|-------------------|---------------------|-----------------------------------|
| Am Anfang | 44 200 | 31 000 |
| Nach 4 Stunden | 970 000 | 80 000 |
| „ 6 „ | 3 410 000 | 510 000 |
| „ 18 „ | 1 300 000 000 | 74 000 000 |
| Generationsdauer. | | |
| | frisch | zersetzt |
| Von 0— 4 Stunden | 55 Min. | 176 Min. |
| „ 4— 6 „ | 66 „ | 45 „ |
| „ 6—18 „ | 84 „ | 100 „ |

Die Maximalzahl.

Bei den Berechnungen in der Einleitung zu dieser Arbeit ging ich von der wohl allgemein üblichen Annahme aus, daß die Anhäufung einer ganzen Anzahl verschiedener Stoffwechselprodukte die Ursache der Wachstumssistierung in alten Kulturen sei. Die im vorigen Abschnitt mitgeteilten Untersuchungen sprechen gegen diese Anschauung. Alle Versuche mit Tonfiltraten alter Bouillonkulturen zeigen, daß energisches Wachstum eintritt, sobald die Bakterien aus der Lösung entfernt werden. Sehr charakteristisch zeigt dies die Tabelle XI. Die Bakterien sind in der 12-tägigen Kultur schon zum Teil abgestorben; statt 2,8 Milliarden sind nur noch 750 Millionen lebende Zellen im Kubikcentimeter; trotzdem vermehren sich dieselben Bakterien darin wieder, sobald die Lösung filtriert ist. Ebenso finden wir in alten Kulturen ein gutes Wachstum, wenn die darin enthaltenen Bakterien durch Erhitzen abgetötet werden.

Durch die obige Annahme können diese Erscheinungen nicht ohne weiteres erklärt werden, denn man pflegt Stoffwechselprodukte allgemein als filtrierbar und hitzebeständig anzunehmen.

Um zu untersuchen, ob man viele Generationen in derselben Bouillon züchten könne, wurde die Bouillon von Tabelle XVII in der gleichen Weise sterilisiert und zum dritten Male geimpft.

Tabelle XXI.

| Gesamtzahl toter Bakterien im ccm | 100° | 68° |
|--------------------------------------|---------------|---------------|
| | 3 000 000 000 | 2 800 000 000 |
| am Anfang | 8 000 | 10 800 |
| nach 3 Stunden | 44 500 | 35 000 |
| „ 6 „ | 100 400 | 98 000 |
| „ 42 „ | 12 000 000 | 6 000 000 |
| „ 24 „ | 470 000 000 | 250 000 000 |
| Generationsdauer. | | |
| | 100° | 68° |
| Von 0— 3 Stunden | 73 Minuten | 106 Minuten |
| „ 3— 6 „ | 153 „ | 121 „ |
| „ 6—12 „ | 52 „ | 61 „ |
| „ 12—24 „ | 136 „ | 134 „ |

Die Bakterien wurden nach der letzten Zählung in der gleichen Weise wie beim ersten Male durch $\frac{1}{4}$ -stündiges Kochen bzw. 24-stündiges Erhitzen auf 68° abgetötet, nach einigen Tagen wurden die Kölbchen wiederum geimpft, nachdem sie sich als steril erwiesen hatten. Die Temperatur betrug anfangs 25° , später 27° . Eine Berechnung der Generationsdauer ist daher zwecklos.

Tabelle XXII.

| Gesamtzahl toter Bakterien im ccm | 100° | 68° |
|-----------------------------------|---------------|---------------|
| | 3 470 000 000 | 3 050 000 000 |
| am Anfang | ca. 1 000 000 | ca. 1 000 000 |
| nach 3 Stunden | 2 570 000 | 2 200 000 |
| " 6 " | 4 070 000 | 1 940 000 |
| " 12 " | 40 000 000 | 26 000 000 |
| " 24 " | — | 976 000 000 |
| " 48 " | 2 800 000 000 | 4 200 000 000 |

Auch eine fünfte und eine sechste Generation wuchs in der in gleicher Weise sterilisierten Kulturflüssigkeit.

Tabelle XXIII.

| Gesamtzahl toter Bakterien im ccm | 100° | 68° |
|-----------------------------------|---------------|---------------|
| | 6 300 000 000 | 7 200 000 000 |
| Impfmenge | 28 000 | 42 000 |
| nach 24 Stunden | 39 000 000 | 72 000 000 |
| " 48 " | 600 000 000 | 1 800 000 000 |
| " 72 " | 800 000 000 | 1 700 000 000 |

Die bei 100° bzw. 68° sterilisierten Kolben wurden wieder geimpft.

Tabelle XXIV.

| Gesamtzahl toter Bakterien im ccm | 100° | 68° |
|-----------------------------------|---------------|---------------|
| | 7 100 000 000 | 9 000 000 000 |
| Impfmenge | 4 800 | 12 700 |
| nach 24 Stunden | 45 000 000 | 189 000 000 |
| " 48 " | 400 000 000 | 1 100 000 000 |
| " 72 " | 500 000 000 | 900 000 000 |

Da die Bouillonmenge nicht mehr zu weiteren Versuchen reichte, konnten keine neuen Impfungen gemacht werden. Aus den obigen Resultaten muß man schließen, daß in der Bouillon durch die Bakterien ein durch Hitze zerstörbarer Stoff gebildet wird, der das Wachstum hemmt. Es ist also nicht etwa die Gesamtzahl der Stoffwechselprodukte der Grund der Entwicklungshemmung in Bakterienkulturen. Es ist vielmehr ein besonderer sehr labiler Körper, welcher die Bakterien schädigt bzw. tötet.

Ueber seine Labilität wurden folgende weiteren Versuche gemacht:

I. 10 ccm Bouillon, mit *B. fluorescens* 48 Stunden bei 26° gehalten. 2 Minuten gekocht, neu geimpft. Nach 24 Stunden kräftiges Wachstum.

II. 10 ccm Bouillon, mit *B. fluorescens* 48 Stunden bei 26° gehalten, mit 10 ccm Aether sterilisiert, nach Verdunsten des Aethers neu geimpft. Nach 24 Stunden steril. 2 Minuten gekocht, wieder geimpft. Nach weiteren 24 Stunden kräftiges Wachstum.

III. 10 ccm sterile Bouillon mit 10 ccm Aether geschüttelt. Geimpft, kräftiges Wachstum.

IV. 10 ccm Bouillon, mit *B. fluorescens* 48 Stunden bei 26° gehalten, 2 Minuten gekocht, nach dem Erkalten mit 10 ccm Aether geschüttelt. Nach Verdunstung des Aethers neu geimpft; gutes Wachstum.

V. 10 ccm Bouillon, mit *B. fluorescens* 48 Stunden bei 26° gehalten, dann 48 Stunden auf 40—45° erhitzt. Neu geimpft, kein Wachstum, nach weiteren 48 Stunden nochmals geimpft; gutes Wachstum.

Diese Versuche zeigen, daß der wachstumshemmende Stoff nicht durch Aether, wohl aber durch Hitze leicht zerstört wird. Die Versuche III und IV zeigen deutlich, daß die Wachstumshemmung in den allein mit Aether behandelten Kulturen nicht auf irgend welche Giftstoffe im Aether zurückzuführen ist, da die Aetherbehandlung der frischen oder gekochten Bouillon das Wachstum nicht hindert. Tabelle XVI zeigt übrigens das gleiche Phänomen. In dem mit Aether sterilisierten Kolben (es waren 80 ccm Aether auf 50 ccm Bouillon genommen) blieb auch bei wiederholter Impfung das Wachstum aus.

Ich suchte nun festzustellen, warum dieser wachstumshemmende Stoff — ich will ihn kurz als *Fluorescens*toxin bezeichnen — nicht das Tonfilter passiert; das Toxin muß diffusibel sein, sonst könnte es ja nicht auf die frisch hineingeimpften Zellen wirken. Ich sterilisierte 3 Tage alte Bouillonkulturen mit Aether, tat dann kleine Stücke von einem zerbrochenen, ausgeglühten Kitasato-Filter hinein und impfte von neuem. In drei so präparierten Kulturen trat neues Wachstum ein, eine vierte blieb steril. Die Kontrollversuche blieben ebenfalls steril. Das Toxin wird also nach diesen Beobachtungen von dem Filtermaterial adsorbiert. Die Kulturen mit den Tonscherben sind fast farblos, mit sehr schwachem, grünem Schimmer, und haben eine stärkere Hautbildung als gewöhnliche Bouillonkulturen, so daß man anfangs geneigt ist, eine Infektion anzunehmen.

Bleibt eine mit Aether sterilisierte Bouillonkultur längere Zeit im diffusen Licht stehen, so zersetzt sich das Toxin, und bei Neuimpfung erhalten wir frisches Wachstum. Diese Eigenschaft teilt der Hemmungsstoff des *B. fluorescens* mit den Toxinen der pathogenen Bakterien und den Enzymen. Eine Isolierung dieses Körpers konnte ich aus Mangel an Zeit nicht vornehmen.

Diese Beobachtung eines „spezifischen Körpers“ bei nicht pathogenen Bakterien steht übrigens durchaus nicht isoliert da; schon mehrfach ist auf solche Stoffe hingewiesen worden. Da man keine besonderen Eigenschaften an ihnen wahrnahm, hat man sie ziemlich unbeachtet gelassen.

Es wurden noch einige andere Bakterien in gleicher Weise auf „Toxinbildung“ untersucht. Je zwei Bouillonröhrchen wurden mit demselben Organismus geimpft und nach 3-tägigem Wachstum im Brutschrank sterilisiert, das eine Röhrchen mit Aether, das andere durch 5 Minuten langes Kochen. Dann wurde wieder geimpft. In allen erhitzten Röhrchen zeigte sich bald intensives Wachstum; die mit Aether behandelten Röhrchen waren jedoch sämtlich nicht steril. Erst nach zweimaliger Aetherbehandlung gelang es, die Kulturen von *B. lactis erythrogenes*, *Vibrio lactis* und *Micrococcus grossus* vollkommen abzutöten; dagegen konnten die Kulturen von *B. typhi murium*, *B. coli*, *Sarcina olens*, *S. flava* überhaupt nicht mit Aether sterilisiert werden. In den mit Aether sterilisierten Kulturen

der oben erwähnten drei Organismen trat nach Wiederimpfung kein Wachstum ein.

Ich habe es sehr bedauert, diese Versuche unterbrechen zu müssen, da die ersten Resultate so vielversprechend sind. Sollten die Untersuchungen anderer meine Ergebnisse bestätigen, so wird die Entwicklungslehre mit einem bisher in dieser Disziplin wohl noch nicht gekannten Faktor, mit den spezifischen Stoffen rechnen müssen.

Nachdruck verboten.

Zur Kenntnis der Cytologie von *Bacillus maximus buccalis* (Miller).

Von N. H. Swellengrebel, Amsterdam.

Mit 1 Tafel.

Die Frage nach dem Vorkommen eines Kernes bei den Bakterien hat von jeher manchen Bakteriologen beschäftigt, und hat, zumal nach dem Erscheinen der Arbeiten Bütschlis, immer reges Interesse geweckt. Um so mehr ist es zu verwundern, daß diese Frage jetzt noch nicht zum endgültigen Abschluß gebracht ist. Dies ist natürlich in erster Instanz der Winzigkeit des Objektes zuzuschreiben, andererseits dem Umstande, daß der Begriff Zellkern ein morphologischer ist; unzweideutige chemische Reaktionen auf das Chromatin haben wir leider zur Zeit noch nicht. Dies kann bei den höheren Organismen kaum zur Verwirrung Anlaß geben, da es bis jetzt noch keine andere Zelleinschlüsse gibt, welche man mit Kernen verwechseln könnte. Bei Bakterien ist die Sachlage aber ganz anders. Hier gibt es verschiedene Arten von Körnchen, welche die Größe haben, die ein Zellkern, wenn er sich vorfände, mutmaßlich haben würde. Dennoch sind es zum Teil keine Kerne, sondern Reservestoffe, wie Volutin etc. Will man diese Körnchen in verschiedene Gruppen einteilen, um eventuell kernartige Gebilde erkennen zu können, so ist es unbedingt erforderlich, chemische Reaktionen unzweideutiger Natur zu Hilfe zu nehmen. Dieses Bedürfnis hat schon Wahrlich empfunden (47), er hat aber unglücklicherweise die unzureichenden Reaktionen von Fr. Schwarz (43) benutzt und ist also nicht zu endgültigen Resultaten gelangt. Arthur Meyers Verdienst ist es (26—29), einen größeren Teil der Bakterienkörnchen genauer chemisch definiert zu haben, er hat es dadurch jedem Forscher ermöglicht, sich davon zu überzeugen, ob die Körnchen, welche er vor sich hat, Fett oder Volutin zuzurechnen sind; man wird also jetzt nicht leicht mehr dazu kommen, Volutinkörner für Kerne anzusehen, was früher immer möglich war.

Ich habe mich seit geraumerer Zeit mit dem Studium einer einzigen Form beschäftigt, da es mir vorteilhafter schien, nur wenige Objekte zugleich, diese aber gründlich, zu untersuchen, als viele Arten mehr oder weniger oberflächlich. Zu diesem Zwecke wurde *Bacillus maximus buccalis* (Miller) gewählt, der zwar den Nachteil hat, nicht züchtbar zu sein und keine Sporen zu bilden, andererseits aber durch seine Größe zur Untersuchung sehr geeignet ist.

Um die vorliegenden Untersuchungen richtig beurteilen zu können, ist eine Uebersicht über die Literatur der Bakteriencytologie, insoweit

sie sich mit der Kernfrage beschäftigt, unbedingt erforderlich, und bin ich also gezwungen, diese hier anzuführen. Allerdings beabsichtige ich nicht, eine vollständige Zusammenfassung dieser Literatur zu geben, was auch gar nicht nötig ist, da dies schon öfter geschehen ist, und zumal in neuester Zeit Migula (33) in dieser Richtung vorzügliches geleistet hat.

I. Einleitung.

Bekanntlich hat Bütschli (4—6) zuerst die Ansicht, welche schon von Hueppe (20) und Klebs (21) gehegt wurde, daß die kleineren Bakterien hauptsächlich aus Kernsubstanz bestehen, näher zu begründen versucht, und hat dabei auch zum ersten Male die wabige Struktur vieler Bakterien festgestellt. Seine Ansichten sind so bekannt, daß man darauf wohl nicht näher einzugehen braucht. Er stützte sich bei seiner Behauptung auf vergleichende Untersuchungen der Schwefelbakterien und Cyanophyceen, weniger auf die Tinktionsfähigkeit, wie Hueppe und Klebs dieses taten. Diese Theorie, welcher sich viele Forscher, wie Frenzel (16), Wahrlich (47), Schewiakoff (41) und anfangs auch Zettnow (49) anschlossen, wurde aufs heftigste von Alfred Fischer (12, 13) bestritten. Dieser wandte sich zunächst gegen die Behauptung, Bakterien seien Kerne, weil sie sich mit Kernfarbstoffen tingieren, indem er zeigte, daß es Kernfarbstoffe überhaupt nicht gibt. Dann suchte er die Annahme der Kernnatur der Bakterien dadurch zu stürzen, daß er zeigte, daß sie plasmolysierbar sind. (Ob dieses letztere Argument nun auch wirklich gegen die Kernnatur spricht, mag dahingestellt bleiben, plasmolysierte Kerne wären doch wohl nicht undenkbar.) Auch zeigte Fischer, daß die angeblichen Plasmareste an den Enden des *Spirillum undula* wahrscheinlich von Plasmolyse herrührten (wobei er aber doch nur bewies, daß es dort keine wahrnehmbaren Plasmareste gibt), und endlich machte er es wahrscheinlich, daß die roten Körner Bütschlis wenigstens teilweise Reserveprodukte darstellen. Betrachtet man diese Einwände Fischers, so fällt es auf, daß keiner von ihnen im stande ist, Bütschlis Theorie wirklich zu stürzen. Dieses war aber auch überaus schwierig, weil der Schwerpunkt der Bütschlischen Beweisführung darin gipfelte, daß die Bakterien dem Zentralkörper der Cyanophyceen homolog seien und daß dieser letztere einen Kern darstelle. Nun hat aber neuerdings Fischer die Kernnatur des Zentralkörpers sehr unwahrscheinlich gemacht, wodurch also auch der beste Grund, die kleineren Bakterien als Kerne aufzufassen, fortfallen muß.

Einer zweiten Ansicht nach sind die Bakterien mehrkernig. Diese Annahme stammt daher, daß man seit geraumer Zeit körnige Gebilde im Zelleibe erblickt hat, welche als Kerne aufgefaßt wurden. Durch das Suchen nach den Körnchen sind deren eine ganze Menge aufgefunden worden, welche ich hier kurz erörtern werde:

1) Die „roten Körner“ Bütschlis, welche von ihm bekanntlich nicht als Kerne aufgefaßt wurden, wohl aber aus Chromatin bestehen sollen. Er nahm mit ihnen Verdauungsversuche vor, welche zeigten, daß sie nach Behandlung mit Pepsinsalzsäure färberisch nicht mehr nachzuweisen waren. Die Verdauung selbst zweifelt er aber dennoch an. Mit diesen Körnchen werden vielfach die zuerst von Babes (1, 2), später von Ernst (7, 8) aufgefundenen „Babes-Ernstschen“ Körperchen identifiziert. Ernst stellte ebenfalls Verdauungsversuche an ihnen an und kam zu denselben Resultaten, wie Bütschli, er hielt sie für

Sporenanlagen und sprach ihnen Kernnatur zu. Später wurden viele in den Bakterien aufgefundene Körnchen ohne weiteres mit den hier angeführten identifiziert, so daß diese beiden Körnerarten wohl sehr heterogene Bestandteile enthalten, welche zum Teil selbst auf plasmolytische Kontraktion zurückzuführen sind. Chemische Reaktionen wurden nicht angestellt, so daß es jetzt sehr schwierig ist, zu entscheiden, was für Körnchen die Autoren gesehen haben. Protopokoff (36), Zukal (59) und teilweise auch Rowland (38) sprechen ihnen Kernnatur zu. Letzterer meint, ein Teil könne wohl Reservestoff sein, Fedorowitsch bezweifelt aber die Kernnatur (10). Die Gegner der Theorie führen an, daß die Körnchen sich nicht in sehr jungen Zellen finden, erst allmählich auftreten und in älteren Zellen oft reichlich vorhanden sind, was natürlich gegen die Kernnatur spricht. Ernst (9) selbst ist in seiner letzten Arbeit über seine Körner ziemlich skeptisch geworden, indem er es für nicht unwahrscheinlich hält, daß sie lipoidartiger Natur im Sinne Overtons sind. Auch Massart ist derselben Meinung (22). Meines Erachtens ist es nicht unmöglich, daß als Babes-Ernstsche Körperchen dann und wann kernartige Gebilde angeführt wurden. Durch den vollständigen Mangel chemischer Reaktionen und die oft recht mangelhafte Technik ist es jetzt unmöglich, bei diesen Angaben Kerne von Reserve- und Kunstprodukten zu sondern.

2) Die Bungeschen sporogenen Körner. Diese Körner, die von Bunge beschrieben wurden (3), treten bei Sporenbildung oft auf. Grimme erklärt sie für Fett (18), sie werden also mit Kernen wohl nichts zu schaffen haben.

3) Die Volutinkörner Arthur Meyers. Diese Körner, von Meyer zuerst in *Spirillum volutans* aufgefunden, sind mikrochemisch gut charakterisiert; ihre Reaktionen werden später angeführt. Durch die mangelhafte Kenntnis der Babes-Ernstschen und roten Körner ist es schwer zu entscheiden, inwieweit diese mit den Volutinkörnern identisch sind. Nach Meyer (29) und Guilliermond (19) sind die „*corpuscules métachromatiques*“ den Volutinkörnern identisch, ebenso nach Meyer die Bütschlischen roten Körner.

4) Die „Chromatinkörner“ Fischers (13, 15) und Migulas (30). Diese Körnchen sind ebenso wie die Volutinkörner mikrochemisch gut charakterisiert. Eine teilweise Identität mit den roten und Babes-Ernstschen Körnchen ist freilich nicht ausgeschlossen, steht aber nicht fest. Diese Körnchen geben die gebräuchlichen Nukleinreaktionen. Auch Wahrlich (47) hat sie schon aufgefunden und Reaktionen an ihnen angestellt. Sehr wahrscheinlich ist es, daß die von A. Meyer als Kerne gedeuteten Körner mit diesen identisch sind (27). Gegen diese Auffassung Meyers hat zumal Migula sich erhoben (32). Er wendet gegen sie ein, daß niemals Teilungen der Meyerschen Kerne zu erblicken seien; wären es wirklich Kerne, so würde man doch wohl einmal Teilungsstadien beobachtet haben. Daß dieser Einwand nicht stichhaltig ist, beweist schon die Erfahrung, welche man mit unzweifelhaft echten Kernen gemacht hat, z. B. mit jenen der *Amoeba crystalligera*; wo es erst Schaudinn gelang, Teilung zu beobachten, den anderen Forschern war sie entgangen, weil sie zu schnell verlief. Seinen anderen Einwand, er habe die Körnchen aus Plasma sich bilden gesehen, erklärt Meyer (27) so, daß Migula die Körner erst nach und nach bemerkt habe. Im allgemeinen kann man wohl sagen, daß es Migula nicht gelungen ist, die Kernnatur der Meyerschen Körnchen unwahrscheinlich zu machen.



Aus dieser Aufführung geht wohl genügend hervor, daß man nicht berechtigt ist, den Babes-Ernstschen Körnern Kernnatur zuzusprechen, da Verwechslung mit Volutin nicht ausgeschlossen ist. Dieses gilt natürlich nicht für die Repräsentanten der vierten Gruppe, und es war also angezeigt, auf diese Gebilde das Studium zu richten.

Eine dritte Anschauung über die Bakterienkerne wird von Zettnow (50, 51, 52), Schaudinn (39, 40) und anderen vertreten. Dieser Theorie zufolge würde der Kern diffus im Plasma verteilt sein, vielleicht ein dem Chromidialapparat Hertwigs vergleichbares Gebilde darstellen (Schaudinn). Diese Theorie, welche ohne Zweifel sehr viel Verlockendes hat, ist nicht immer genau umschrieben. Zum Teil beruht sie nur auf der starken Färbbarkeit der Bakterien mit Kernfarbstoffen.

Zettnow stützte sich bei seiner Annahme auf die Romanowski-Färbung, die Schollen rotgefärbter Substanz zwischen der blauen Grundmasse erkennen ließ. Schaudinn fand in seinem *Bacillus Bütschlii* zwischen den Waben chromatische Körnchen, die sich von der Sporenbildung zu einem dem Kerne höherer Organismen vergleichbaren Gebilde vereinigten. Schaudinn nahm an, der Kern sei, wenn keine Sporen gebildet werden, diffus im Zelleibe verteilt, die Körnchen seien vielleicht den Hertwigschen Chromidien gleichzusetzen. Unglücklicherweise sind seine Körner chemisch nur mangelhaft charakterisiert, so daß seine Resultate nicht ganz eindeutig sind. Doch ist seine Arbeit von größter Wichtigkeit, indem sie dem Kernstudium einen ganz neuen Weg eröffnet hat. Dergleichen Anschauungen wurden auch mehr oder weniger deutlich von Migula (30), Mitrophanow (34) und Weigert (48) vertreten.

Ueberblickt man die Resultate der Körnerforschung bei den Bakterien, so kann man die Körner in zwei Hauptgruppen unterbringen: 1) Die chemisch mangelhaft oder gar nicht definierten Körnchen; hierzu gehören die roten und Babes-Ernstschen Körnerchen, die Krompecherschen Körnchen und eigentlich auch die Schaudinnschen Körner, denn, obwohl diese morphologisch überaus genau studiert sind, hat er keine chemischen Reaktionen vorgenommen, so daß Verwechslung mit Reserveprodukten nicht ausgeschlossen ist. Schaudinn hat diese Lücke selbst schon erkannt und bedauert sehr, nicht die Gelegenheit gehabt zu haben, sie auszufüllen. 2) Die chemisch genauer definierten Körnchen. Hierzu gehören die Fettröpfchen und die Volutinkörner A. Meyers, weiter seine „Kerne“, welche negativ charakterisiert wurden, d. h. so, daß er zeigte, daß sie keinen Reservestoff darstellen, die Bungeschen Körnchen und endlich die Chromatinkörnchen Wahrlichs, Migulas und Fischers, welche sich durch ihre Reaktion scharf vom Volutin abgrenzen.

Es bleibt jetzt noch eine Anschauung übrig, welche zu interessant ist, als daß man sie übergehen könnte. Dieser Auffassung nach, welcher jetzt ziemlich allgemein gehuldigt wird und welche auch von Gotschlich im Handbuch der pathogenen Mikroorganismen (17) angenommen ist, ist in der Bakterienzelle ein einziger relativ großer Kern, welcher sich im Zentrum der Zelle befindet und sich zugleich mit dieser teilt. Für die Kritik der diesbezüglichen Arbeiten Sjöbrings (42), Schottelius' (60), Nakanishis (61) etc. verweise ich auf die Arbeiten Fischers (12) und Migulas (33), aus welchen hervorgeht, daß hier im allgemeinen Täuschungen vorliegen, welche ungenügender Technik oder optischen Täuschung entsprossen sind (daselbst auch die diesbezügliche

vollständige Literatur). Es bleiben aber einige Arbeiten übrig, welche durch diese Kritik nicht getroffen werden; es sind dies die Arbeiten der böhmischen Forscher Raymann und Kruis (37), Vejdowsky (45, 46) und Mencl (23, 24). Diese Forscher bedienten sich bei ihren Untersuchungen sehr schonender Methoden, so daß Kunstprodukte wohl ausgeschlossen waren. Sie fanden in jeder Zelle einen meist gut umschriebenen Kern oder jedenfalls ein Gebilde, das kernartig aussah und auch Stadien, welche an eine mitotische Teilung erinnerten. Indem Mencl und Vejdowsky die Kerne bei gewöhnlicher Eisenoxydammon-Hämatoxylinfärbung nach längerem Fixieren ohne weiteres zu Gesichte bekamen, war bei Raymanns und Kruis' Verfahren dazu Mikrophotographie erforderlich, was die Untersuchung natürlich nicht unerheblich erschwert. Migula (33) hat gegen Vejdowskys erste Arbeit den Einwand erhoben, Vejdowskys Bakterien seien gar keine Spaltpilze. Obwohl dieser Einwand der eigentümlichen Kapselbildung wegen vielleicht zutrifft, ist dieses nicht der Fall bei anderen von ihm untersuchten Formen, ebensowenig bei jenen Mencls und von Raymann und Kruis. Ich werde später noch auf die Arbeiten Mencls zurückkommen¹⁾.

Es sei hier noch kurz auf die Arbeit von Trambusti und Galeotti hingewiesen, welche sehr eigentümliche und unwahrscheinliche Ergebnisse bringt, die wohl auf plasmolytische Erscheinungen zurückzuführen sind (44).

Ueberblickt man die ganze hier angeführte Literatur, so ersieht man, daß, wenn man alle Reservekörner beiseite läßt, eine Reihe Körnchen übrig bleibt, welche sich in den Bakterienzellen in größerer und geringerer Menge finden. Es ist also jetzt die Aufgabe, die Kernnatur dieser Gebilde näher zu begründen oder zu zeigen, daß sie mit Kernen nichts zu tun haben. Des weiteren muß untersucht werden, inwiefern die „Kerne“ Vejdowskys, Mencls und von Raymann und Kruis bei den Bakterien weitere Verbreitung haben.

II. Methodisches.

Daß die zur Herstellung gewöhnlicher Bakterienpräparate üblichen Methoden zur Erforschung der Bakterienzytologie nicht geeignet sind, ist ohne weiteres einleuchtend. Durch das Auftrocknen der lebenden Bakterien tritt Plasmolyse ein und durch das Fixieren in der Flamme werden feinere Strukturen zweifelsohne geschädigt. Auf das Nichtbeachten dieser Tatsachen ist wohl ein Teil der Mißerfolge der Kernforschung zurückzuführen.

Wie gesagt, werden Bakterien, wenn man sie in einer nicht fixierenden Flüssigkeit eintrocknen läßt, sehr oft plasmolysiert, tut man dieses aber in einer Fixierungsflüssigkeit, dann bleibt die Form unverzerrt erhalten, wie dieses schon Fischer gezeigt hat (13). Die hier untersuchten Bakterien wurden auf verschiedene Weisen fixiert; entweder wurden sie in einer Gelatinelösung aufgeschwemmt, in einer dünnen Schicht auf dem Deckglase ausgestrichen und sofort ohne vorheriges Trocknen in die Fixierungsflüssigkeit eingetaucht (welche Methode mir

1) Was seine Befunde anbelangt, so kann ich Vejdowsky teilweise beistimmen: Bei *Leptothrix maxima buccalis* habe ich ähnliche Strukturen gefunden, wie er sie Fig. 35–38 seiner zweiten Abhandlung abbildet. In seinen Deutungen kann ich aber ihm kaum folgen.

bei den Saccharomyceten gute Dienste geleistet hatte), oder sie wurden in einem Tropfen Fixierungsflüssigkeit auf dem Deckglase aufgeschwemmt, welche ich nach vorhergegangener gleichmäßiger Ausbreitung antrocknen ließ. Da diese beiden Methoden dieselben Resultate ergaben und die zweite die einfachste war, so wurde diese im allgemeinen bevorzugt. Plasmolyse trat nur selten und an vereinzelt Individuen auf, obwohl infolge der Kettenbildung die geringste Kontraktion dadurch sichtbar wurde, daß ein Spalt zwischen zwei Nachbarzellen auftrat und man also die geringsten Spuren der Plasmolyse sofort sehen konnte.

Als Fixierungsflüssigkeit wurde zuerst ein Sublimat-Alkohol-Essigsäuregemisch benutzt, welches aber darum schlechte Resultate ergab, weil sie starke Blasenbildung in Protoplasma hervorrief und so die Strukturen schädigte, wie auch Schaudinn dies bei *Bac. Bütschlii* beobachtete. Bessere Resultate ergab das Sublimat-Alkoholgemisch nach Schaudinn, doch war diese Flüssigkeit ziemlich launisch und rief zuweilen ganz unzulässige Verzerrungen hervor, so daß ich auch diese nicht viel benutzte. Sehr gut war die Wirkung einer starken Formalinlösung (35-proz.): Man ließ die Bakterien in der angegebenen Weise in einem Tropfen antrocknen und färbte sie dann sofort oder beließ sie noch 24 Stunden in derselben Flüssigkeit. Als Färbungsmittel wurde vorzugsweise Heidenhain'sches Eisenhämatoxylin verwendet, welches namentlich hier, wo man bei verschiedenen Entfärbungsgraden ganz andere Strukturen zu Gesicht bekommt, sehr gute Dienste leistet. Neben der Heidenhain-Färbung wurde auch die Romanowski-Doppelfärbung (nach Ziemann 57) benutzt. Es sei zur Methodik dieser Färbung noch darauf hingewiesen, daß es, jedenfalls bei *Bac. maximus*, nicht angebracht ist, nach Ueberfärbung des Methylenblaus noch mit Eosin zu differenzieren, da man sonst sehr eigentümliche, leicht Irrtümer herbeiführende Bilder bekommt, wie rote unregelmäßige Schollen im blauen Felde etc. Am besten ist es, wenn man so färbt, daß die Kern-differenzierung gleich eintritt, was am einfachsten gelingt, wenn man die Flüssigkeit nur kürzere Zeit einwirken läßt. Die Präparate halten sich nicht lange; als ich sie nach ungefähr 2 Monaten noch einmal durchmusterte, waren sie zum größten Teil entfärbt. Es ist nicht zu empfehlen, die Romanowski-Methode als einzige Färbung zu verwenden; als Kontrolle leistet sie gute Dienste.

Es wurde auch Färbung mit Methylenblau ohne vorherige Trocknung und Fixierung vorgenommen, wobei die von A. Meyer (28) beschriebene Methode der Färbung mit Methylenblau 1+10 (1 Methylenblau + 10 Wasser) befolgt wurde. Diese Methode ergab dieselben Bilder, wie die Heidenhain-Färbung und wurde zumal als Kontrollfärbung benutzt, um zu untersuchen, ob die erstere durch die vorhergehende Trocknung und Fixierung vielleicht irgendwelche Artefakte zeigte. Bei dieser Behandlung färben die Kerne der in den Präparaten meist reichlich vorhandenen Epithelzellen und polynukleären Leukocyten sich ebenfalls. Bei dieser Methode färben sich die später zu erwähnenden Körnerfaden blau. Man kann aber eine schöne Metachromasie erhalten, wenn man nach der Einwirkung des Methylenblaus eine sehr verdünnte alkalische Flüssigkeit einwirken läßt. Ich benutzte hierzu das Amsterdamer Leitungswasser, das ziemlich reich ist an CaCO_3 , und ließ davon einen Tropfen auf den Objektträger bei 40° eintrocknen, nachdem etwas von der gefärbten Bakterienmasse darin aufgeschwemmt war. Das Plasma färbt sich bei dieser Behandlung blau, die Körner-

fäden rot. Freilich konnte diese Färbung nicht als Kontrolle dienen, des Austrocknens wegen, doch gab sie oft noch bessere Kontrastfärbung als die Romanowski-Methode.

III. Cytologie.

1. Ruhestadien der Spirale.

Der *Bacillus maximus buccalis*, welcher bekanntlich zum ersten Male von Miller (62) beschrieben wurde, stellt ein großes Stäbchen dar mit abgerundeten Enden, von $8\ \mu$ bis $20\text{--}27\ \mu$ Länge und $1,4\text{--}1,9\ \mu$ Breite. Er findet sich auf der Außenseite der Zähne beim Menschen vor, weniger auf der Innenseite, wo zumal *Leptothrix* sich findet. Die Zellen lassen nach der Teilung nicht gleich voneinander los, sondern bleiben längere Zeit aneinander haften, so daß große Ketten entstehen. Es ist schwierig, die Querwände in ihrem Entstehen zu verfolgen, da sie ein von dem Cytoplasma wenig abweichendes Lichtbrechungsvermögen besitzen. Außerdem färben die Zellwände sich mit Heidenhain-Hämatoxylin sehr schlecht, so daß man die einzelnen Glieder einer Kette nicht voneinander unterscheiden kann. Hierdurch kommt es, daß auf meinen Abbildungen dieser Präparate die Zellen viel länger erscheinen, als sie in Wirklichkeit sind. Es gelingt aber, die Wand sehr schön zu färben, wenn man Methylenblau 1 + 10 sehr kurze Zeit einwirken läßt, so daß der Inhalt sich noch nicht oder nur äußerst schwach gefärbt hat. Die Wände treten dann scharf hervor. In solchen Präparaten kann man alle Stadien der Querwandbildung finden, wovon einige in Fig. 8, 10, 11 abgebildet sind. Man sieht im optischen Querschnitt zwei von den Längswänden ins Zelllumen hineinragende, sich inmitten der Zelle noch nicht berührende Septen. In Wirklichkeit ist es aber ein Ring, denn bei höherer oder tieferer Einstellung sieht man die zwei Septen nicht mehr, sondern eine scheinbar ununterbrochene Querwand. Diese Befunde stimmen mit den meisten Untersuchungen über Querwandbildung bei Bakterien überein (Bütschli, Meyer, Migula u. A.). Nur bei *Bac. Bütschlii* ist die Sachlage anders. Die Anlage der Querwände ist nicht immer inmitten der Zellen gelegen, sondern oft an einem Ende. Da nun die vollendete Querwand ungefähr in der Mitte der Mutterzelle gelegen ist, so folgt hieraus, daß die Zelle ein terminales und kein, oder nur ein beschränktes interkalares Wachstum aufweist.

Das Wachstum der Bakterienketten geht ziemlich unregelmäßig vor sich. Nicht nur die Scheitelzelle teilt sich, sondern auch die mehr inmitten der Kette gelegenen Zellen, ganz unabhängig voneinander. Es kann hier also von einer primitiven Arbeitsteilung keine Rede sein, was ebenfalls mit den Befunden Migulas bei *Bac. oxalaticus* übereinstimmt.

Bacillus maximus kommt nicht zu jeder Tageszeit in gleich großen Mengen vor, und es ist auch nicht gleichgültig, ob man ihn morgens oder abends sammelt. Morgens ist er am reichlichsten vorhanden. Die Bacillen liegen dann einzeln oder in Büscheln zusammen im Zahnschleime und zeigen sehr schön die zu beschreibenden Strukturen. Abends sind sie in viel geringerer Menge da, zumal wenn man zu Tische saueres Obst gegessen hat. Dann zeigen die Zellen auch nicht mehr so schön die Strukturbilder, sie sind vielmehr stark vakuolisiert und offenbar in Degeneration begriffen, es sind auch nur noch wenige Individuen

da. Es ist also sehr zu empfehlen, nur am Morgen gesammeltes Material zu verwenden.

Der Unfähigkeit wegen, sich auf künstlichem Nährboden züchten zu lassen, glaubten Einige annehmen zu dürfen, daß die Mundbakterien zum größten Teil tot sind und nur zufälligerweise in die Mundhöhle hineingeraten sind. Diese Annahme ist meines Erachtens aber unrichtig. Die große Menge, in welcher der *Bacillus* sich morgens vorfindet, das büschelartige Hervorwachsen aus dem Zahnschleime, die lebhafteste Teilung, worin die Zellen offenbar begriffen sind, und ihr regelmäßiges Vorkommen schließen jeden Gedanken an abgestorbene Zellen von vornherein aus.

Bei der Untersuchung im lebenden ungefärbten Zustande ist bei *Bac. maximus* nicht viel zu sehen. Die Bacillen sind sehr stark lichtbrechend und lassen nur dann und wann etwas von der inneren Struktur sehen, so konnte ich bisweilen peripher gelegene Körnchen durch Querstreifen verbunden beobachten.

Auch die Vakuolen sind nur selten sichtbar. Färbt man die Bacillen mit einer verdünnten Jodjodkaliumlösung, so färbt das in den Zellen enthaltene Iogen (ein amyloidartiger Körper) sich violett. Die Färbung ist keine gleichmäßige, es färben sich nur Segmente oder Körner, welche vom gelben Protoplasma getrennt werden. Ich vermute daher, daß es die Vakuolen sind, welche mit Iogen gefüllt sind, was auch erklären würde, warum sie im lebenden Zustande so schlecht zu sehen sind, da das Iogen in seinem Lichtbrechungsvermögen vielleicht nur wenig vom Cytoplasma verschieden ist. Dieser Reservestoff ist nicht immer in den Zellen enthalten. In den am Morgen gesammelten Bacillen habe ich ihn öfters nicht nachweisen können. Dieses rührt vielleicht davon her, daß das Iogen während der lebhaften Vermehrung nicht gebildet und etwa vorhandenes gleich aufgebraucht wird, wie dies z. B. auch bei dem Glykogen in den Hefezellen der Fall ist. Doch ist diese Erscheinung keine regelmäßige, und ich habe hierüber auch keine näheren Versuche angestellt, nur möchte ich darauf hinweisen, daß das Vorkommen oder Fehlen des Iogens nicht als Differentialdiagnostikum dienen kann, um *Bac. maximus* von anderen Formen zu trennen, wie dies bis jetzt üblich war (cf. Günther [63] p. 587). Die kein Iogen enthaltenden Bacillen stimmen in Größe und feinerer Struktur ganz mit den anderen überein, und es ist also nicht zulässig, sie als zwei Arten aufzufassen.

Ganz andere Bilder bekommt man, wenn man fixiert und mit Heidenhain'schem Hämatoxylin färbt. Das Bild ist ein verschiedenes, je nachdem man das Plasma ganz entfärbt hat oder nicht. Im zweiten Falle zeigt sich in den Zellen eine große Menge Vakuolen, die meist in einer Reihe gelegen sind (Fig. 17, 18), bisweilen gibt es aber auch mehrere kleinere in der Breite, so daß die Vakuolen dann und wann selbst in zwei Reihen gelegen sind (Fig. 19), was dem Cytoplasma ein schaumartiges Ansehen gibt. War die Entfärbung schon weit genug fortgeschritten, so erblickt man quer über dem Bacillenleibe verlaufende dunkle Streifen, an deren Enden nicht selten Körnchen sichtbar sind (Fig. 14, 15, 16). Zum genaueren Studium dieser Körnchen und Querfäden ist es aber notwendig, weiter zu entfärben, wobei die meisten Vakuolen unsichtbar werden. In solchen Präparaten sieht man die Körnchen ganz deutlich, meist sind sie peripher gelegen, bisweilen kommt es aber vor, daß sie mehr median orientiert sind. Sie sind untereinander durch feine Fäden verbunden, welche schief zur Längsachse

der Zellen verlaufen. Es sind dieses offenbar nicht die zufällig gefärbt gebliebenen Septen, welche die Vakuolen trennen, denn diese stehen senkrecht zur Längsachse, sondern es sind vielmehr die dunklen Querstreifen und quer über den Vakuolen verlaufenden Bänder, welche man schon bei weniger weit fortgeschrittener Entfärbung zu Gesicht bekam. Die an beiden Längsseiten der Zellen gelegenen Körnchen stehen nicht einander gegenüber, sondern wechseln mehr oder weniger regelmäßig miteinander ab; die Folge ist, daß die die Körnchen verbindenden Fäden eine Spirale (scheinbar eine Zickzacklinie) durch die Zellen beschreibt. Diese Linie geht immer der Peripherie der Zellen entlang, nicht quer durch das Lumen hindurch, man kann sich davon leicht überzeugen, wenn man das Mikroskop genau auf die Zellwand einstellt; man sieht dann die Querschnitte weniger genau, sondern muß die Linse heben oder senken, um klare Einstellung zu erhalten. Der Körnerfaden beschreibt also eine Spirale und keine Zickzacklinie. Hierdurch wird auch die Annahme, die Querschnitte seien cytoplasmatische Septen, unhaltbar.

Die Spirale besteht entweder aus durch feine Fäden verbundenen Körnchen oder aus einem etwas stärkeren und mehr chromatischen, dann aber des Körnchen entbehrenden Faden. Es ist dieses nicht die Folge einer schlechten Differenzierung, denn dann würden an wenig differenzierten Zellen niemals Körnchen zu sehen sein, was nicht der Fall ist, umgekehrt sieht man nicht selten an stark differenzierten Zellen die Bänder ohne Körner. Es ist mir zur Zeit unmöglich, dieser Erscheinung eine plausible Erklärung zu geben, zumal darum, weil diese Erscheinung anscheinend ohne irgendwelche Regelmäßigkeit auftritt. Es ist klar, daß die Zahl der Körnchen eine ziemlich inkonstante sein muß, anders ist es mit der Zahl der Spiralwindungen, welche (jedenfalls in ruhenden Zellen, wo die Spirale sich nicht verdoppelt) ziemlich konstant ist; es finden sich in jeder Zelle 3 — 5 $\frac{1}{2}$ (meistens 4) Windungen vor. Man muß bei der Zählung vorsichtig sein, daß man nicht die Windungen einer Doppelspirale zählt oder 2 Zellen zusammen für eine ansieht (was bei der Heidenhain-Färbung vorkommen kann).

Sehr schön kann man dieselben Strukturbilder zu Gesicht bekommen, wenn man ein wenig frisches Material in einem Tropfen Wasser aufschwemmt und dann schnell einen Tropfen Methylenblau durchsaugen läßt. Hat man die richtige Färbungszeit getroffen, dann sind die Körnchen und Querschnitte schön blau gefärbt. Unglücklicherweise lassen die so hergestellten Präparate sich nur ungenügend konservieren, so daß zur Herstellung von Dauerpräparaten immer wieder auf die Heidenhain-Färbung zurückgegriffen werden mußte.

Wurden die Bakterien mit dem Romanowski-Ziemann-Gemische auf die vorher beschriebene Weise gefärbt, so wurden die Körnchen leuchtend- bis purpurrot tingiert. Auch hier machte sich wieder der Unterschied zwischen Körnchenfäden und körnchenlosen Fäden geltend. Während die Verbindungsfäden der Körner einen mehr rötlich-blauen Ton anzunehmen pflegen, werden die körnchenlosen Fäden schön rot gefärbt. Es scheint, daß in diesen Fadenarten die chromatische Substanz der Körnchen sich mit der achromatischen Substanz der Querschnitte zu einem homogenen Gebilde vermischt hat.

Die hier beschriebene Struktur des *Bacillus maximus* weicht nicht unerheblich von jener ab, welche im allgemeinen bei Bakterien beschrieben wird. Die früher beschriebenen Körnchen waren meist in einer Reihe gelegen oder unregelmäßig in den Zellen verbreitet. Doch

sind einige mehr oder weniger übereinstimmende Resultate aufzuweisen. Zettnow (50) hat Spirillen abgebildet, deren Körnchen ebenso wie die von mir beobachteten in der Zellenperipherie gelegen waren; ebenso ist es mit Sjöbrings (42) erythrophilen Körnchen. Mehr Uebereinstimmung bieten die von Ernst (9) beschriebenen Strukturen einiger Bakterien; er fand periphere Körnchen in alternierender Stellung durch Querfäden verbunden. Offenbar mißt er aber diesen Befunden kein großes Gewicht bei. Mencl (23, 24) bildet Bakterien ab, die in ihren Strukturen sehr gut mit meinen Befunden übereinstimmen, man sieht abwechselnd gestellte Körnchen durch Querfäden verbunden. Mencl gibt aber an, diese Querfäden seien Plasmasepten, welche die Vakuolen voneinander trennen, man erhalte diese Bilder nur bei ungenügender Fixierung und Differenzierung, sonst bekomme man die Kerne selbst zu Gesicht. Inwiefern diese Angabe richtig ist, vermag ich nicht zu sagen. Für *Bacillus maximus* trifft sie jedenfalls nicht zu. Selbst nach langem Fixieren (was nach Mencl zur Darstellung der Kerne unbedingt erforderlich ist) und sorgfältigstem Differenzieren war es mir unmöglich, ein Gebilde nachzuweisen, was den von Mencl und Vejdowsky bei anderen Bakterien beschriebenen Kernen glich. Doch habe ich *Bacillus maximus* monatelang zu verschiedenen Tageszeiten beobachtet, so daß eventuell zeitweise auftretende Kerne mir schwerlich entgangen sein könnten. Jedenfalls wollen meine Befunde jene warnen, welche die Beobachtungen Vejdowskys und Mencls verallgemeinern wollen, wie z. B. Gotschlich dieses zu tun geneigt scheint. Auch in seiner zweiten Arbeit erwähnt Mencl dergleichen Gebilde, spricht sich über ihre Natur aber nicht aus.

Mitrophanow (34) gibt in Fig. 24 eine Abbildung von *Ophidomonas Jenensis* mit einem spiralförmigen, übrigens homogenen Gebilde, welchem Verf. Kernnatur zuspricht. Dieser Befund, welcher wenig Beachtung gefunden zu haben scheint, obwohl er doch wesentlich Neues im Gebiete der Bakterienkernforschung brachte, stimmt im allgemeinen mit meinen Resultaten überein.

Auch Bütschli und Frenzel haben Bilder gegeben, die anscheinend dieselbe Struktur aufweisen, wie ich sie gesehen habe; es werden aber die Querstreifen immer als Wabensepten gedeutet, so daß es unmöglich ist, von vornherein zu bestimmen, ob hier wirklich homologe Strukturen vorliegen; es ist ja auch sehr gut möglich, daß die oben geschilderten Strukturbilder nicht allgemein unter den Bakterien verbreitet sind und vielleicht nur ausnahmsweise auftreten.

2. Teilungsstadien der Spirale.

In jeder Zelle des *Bacillus maximus* kommt eine Spirale (mit welchem nichts voraussetzenden Namen ich vorläufig den ganzen oben beschriebenen Apparat bezeichnen will) vor. Man findet in jedem Präparate freilich genug Zellen, welche einen solchen Apparat nicht oder nur undeutlich aufweisen, aber dies muß auf ungenügende Färbung oder auf Degenerationserscheinungen zurückgeführt werden.

Wenn bei der Teilung jede Tochterzelle eine Spirale bekommt, so muß vorher irgendwelche Vergrößerung eingetreten sein. Am einfachsten könnte man sich diese Verdoppelung so vorstellen, daß die Spirale einfach mit der Zelle zur doppelten Länge auswüchse, und sich zugleich mit dieser in zwei gleiche Teile teilte. Beim Studium meiner Präparate

habe ich aber Bilder aufgefunden, welche mit dieser Anschauung nicht stimmen und einen mehr komplizierten Teilungsvorgang wahrscheinlich machen; ich werde hier die verschiedenen Stadien der Verdoppelung nacheinander beschreiben.

Als erstes Zeichen der Verdoppelung sieht man, daß die Körnchen nicht mehr in Einzahl vorkommen, sondern je zwei nebeneinander gelegen sind (Fig. 21, 22, 23); bisweilen kann man selbst Stadien auffinden, in welchen die Körnchen sich noch nicht geteilt haben, sondern nur in die Länge ausgezogen sind (Fig. 21, 23 a). Auch die Querfäden fangen an sich zu verdoppeln, so daß zuletzt der ganze Apparat aus zwei dicht nebeneinander gelegenen Spiralen aufgebaut ist. Die Verdoppelung scheint nicht auf einmal über den ganzen Faden hin stattzufinden, sondern succedan von einem Ende zum anderen fortzuschreiten, wie aus Fig. 21, 23 hervorgeht.

Während des Wachstums der Zelle fangen die zwei Spiralen allem Anschein nach an auseinander zu rücken. Wie dieses vor sich geht, habe ich nicht verfolgen können. Bisweilen habe ich, vom Endkörnchen der Spirale zur Querwand, welche die betreffende Zelle von seiner Nachbarin trennte, einen Faden verfolgen können, welcher dem Verbindungsfaden der Körnchen ganz gleichkam und offenbar an der Querwand befestigt war. Wenn nach der Teilung die zwei Tochtspiralen an je einem gegenüberstehenden Pole der Zelle befestigt werden, dann müssen sie beim Wachstum der Zelle auseinander gerückt werden, und es würde so das Auseinanderrücken der zwei Spiralen erklärt sein. Verschiedene Stadien dieses Vorganges habe ich auf Fig. 24, 25, 26, 27, 28, 29 abgebildet. Hierbei ist zu bemerken, daß jedesmal, wenn zwei Spiralswindungen übereinander hergleiten, wieder das erste Teilungsstadium vorgetäuscht werden kann, wie dieses z. B. in Fig. 28 der Fall ist. Nach und nach werden immer mehr Windungen voneinander frei und endlich liegt von jeder Spirale nur noch eine Windung auf der letzten des anderen (Fig. 30, 31). Rücken die zwei Spiralen jetzt noch weiter auseinander, dann ist es schwer, zu sehen, ob nur ein Faden vorliegt, von welchem ein Querfaden entfärbt ist, oder zwei. Bisweilen kann man das aber daraus ersehen, daß die einander zugekehrten Endkörnchen auf derselben Seite der Zellen so dicht nebeneinander gelegen sind, daß es unmöglich ist, daß an der anderen Seite zwischen beiden Körnchen noch ein drittes liegen könne (Fig. 33). Die Zelle hat ihre Länge jetzt auch verdoppelt und es folgt die Teilung.

Durch diesen Vorgang wird es nicht nur erreicht, daß jede Tochterzelle eine Spirale bekommt, sondern auch, daß jeder Teil dieses Fadens in zwei Hälften geteilt wird, wovon die Teilstücke über die beiden Tochterzellen verteilt werden. Die Teilung der beiden Tochtspiralen scheint schon eingeleitet zu werden, bevor sie ganz auseinander gerückt sind, wie aus Fig. 31 ersichtlich ist. Hierdurch wird die Teilungsgeschwindigkeit natürlich wesentlich gefördert.

Da diese Befunde an gefärbten und fixierten Präparaten gemacht wurden, fragt es sich, ob hier wirklich Teilungsstadien vorliegen, oder ob sie vielleicht einen etwa mehr komplizierten Körnerapparat oder sogar Artefakte darstellen. Die zweite dieser Annahmen wird dadurch beseitigt, daß dieselben Bilder an frischem Materiale mit der Methylenblaufärbung zu erhalten sind. Auch die zweite Annahme ist m. E. nicht haltbar. Man kann sich freilich vorstellen, daß der Körnerapparat dann und wann aus zwei ineinander geflochtenen Spiralen bestehe,

ohne daß eine wirkliche Teilung vorläge. Unerklärlich bleibt dann die Teilung der Körnchen und die verschiedenartigen Stellungen, welche die zwei Spiralen einander gegenüber einnehmen können, was bei der Annahme einer Teilung sofort eine plausible Erklärung findet. Ich glaube also anzunehmen berechtigt zu sein, daß hier eine wirkliche Teilung vorliegt.

Vielleicht hängen mit dieser Teilung die zwei oben schon zweimal erörterten Formen zusammen, in welchen die Spirale sich zeigen kann. Unmöglich ist es nicht, daß die körnerlose Form den eigentlichen Ruhezustand des Apparates darstellt, indem das Körnerstadium, welches durch Herausbildung der chromatischen Substanz entsteht, den Anfang der Teilung darstellen würde. Für diese Annahme sprechen einige Beobachtungen: Man findet Zellen, welche nur eine körnerlose Spirale enthalten; bei den ersten Teilungsstadien wurden niemals körnerlose Teilungsprodukte beobachtet; das Entstehen oder Verschwinden der körnerlosen Stadien scheint dem Auftreten und Verschwinden der Teilungsstadien parallel zu verlaufen. Ebenso wie die Teilung eines Körnerfadens nicht auf einmal, sondern succedan stattfindet, so sieht man auch, daß die körnerlose Spirale succedan in das Körnchenstadium übergeht. Nach der Teilung fangen die beiden Teilstücke an sich wieder zu teilen, bevor sie noch auseinander gerückt sind, ebenso sieht man, daß vor und während dieser Teilung Umwandlung vom körnerlosen Stadium ins Körnerstadium stattfindet (Fig. 27, 30).

Wenn die körnerlose Spirale wirklich ein Ruhestadium darstellt, dann scheint der Körnerapparat nur selten zur Ruhe zu kommen. Freilich sieht man, wie schon erwähnt, nicht all zu selten Bakterien mit vollständig körnerloser Spirale, doch ist die Körnerform die allgemeinere (Fig. 13). Es sei hier noch darauf hingewiesen, daß der ursächliche Zusammenhang zwischen den beiden Fadenarten einerseits und der Teilung andererseits, aus den angeführten Gründen nicht erwiesen ist, weil der Vorgang nicht in vivo beobachtet werden konnte.

IV. Mikrochemische Befunde.

Wie schon im Anfang erörtert, ist es zum Studium der Bakterien-cytologie erforderlich, die färberisch erhaltenen Resultate chemisch zu prüfen, weil es in dem Bakterienleibe eine Reihe von Reserveprodukten gibt, welche als feinste Körnchen abgelagert sind und also leicht Täuschungen verursachen können. Als solche Reservestoffe kommen zumal Fett und Volutin in Betracht. Obwohl es von vornherein wahrscheinlich war, daß die von mir beobachtete Körnerspirale kein Reserveprodukt darstellt, da diese Produkte im Bakterienleibe niemals in dieser Form angetroffen wurden, habe ich doch eine Reihe mikrochemischer Reaktionen vorgenommen, zunächst um zu ermitteln, ob die Körnchen kein Fett oder Volutin darstellen, weiter um ihre Chromatinnatur wahrscheinlicher zu machen.

Daß die Körnchen kein Fett darstellen könnten, war dadurch schon wahrscheinlich gemacht, daß sie beim Präparieren mit Xylol und Alkohol nicht gelöst wurden. Speziell darüber angestellte, längere Zeit dauernde Lösungsversuche mit Xylol ergaben ebenso negative Resultate. Durch Sudan III werden die Körnchen nicht gefärbt.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Der feinere Bau der Saccharomycetenzelle.

[Eine kurze zusammenfassende Uebersicht.]

(Botanisches Institut der k. k. Technischen Hochschule in Graz.)

Von Dr. **Franz Fuhrmann**,

Privatdozent an der Technischen Hochschule zu Graz.

Von der Ueberzeugung geleitet, daß eine zusammenfassende Uebersicht über irgend ein Forschungsgebiet in erster Linie eine oberflächliche Orientierung über den betreffenden Gegenstand an der Hand eines möglichst genauen Literaturverzeichnisses bieten soll, wurde auf eine tunlichste Knappheit des Textes gesehen und ein nach Möglichkeit vollständiges Literaturverzeichnis angeschlossen, welches größtenteils auch den vollen Titel der betreffenden Abhandlung nebst Angabe des leicht zugänglichen Referates enthält. Wegen der angestrebten Kürze des Textes mußte des öfteren verzichtet werden, auf Einzelheiten näher einzugehen und deshalb wurden im Literaturverzeichnis bedeutend mehr Abhandlungen aufgenommen, als namentlich im Text aufgeführt erscheinen. Trotz peinlicher Genauigkeit bei der Literaturzusammenstellung ist es bei der Fülle derselben kaum möglich, nicht die eine oder andere kurze Mitteilung des Auslandes übersehen zu haben, was eben entschuldigt werden möge. Wo sich über denselben Gegenstand mehrere Arbeiten eines Autors fanden, wurde meistens die letzte zitiert, wenn die früheren Publikationen darin referiert sind.

Die vorliegende, zusammenfassende Uebersicht über unsere Kenntnisse vom feineren Bau der Hefezelle muß sich naturgemäß in erster Linie mit den „echten Saccharomyceten“ der Systematik von E. Chr. Hansen (39) beschäftigen, da gerade die verschiedenen Vertreter dieser Klasse am genauesten untersucht sind, während über den feineren Bau der von Hansen unter „zweifelhafte Saccharomyceten“ vereinten Formen minder eingehende Studien vorliegen. Entsprechend der Systematik Chr. Hansens sind die Vertreter der Gruppe „Schizosaccharomyces“ hier nicht näher zu berücksichtigen, da ihnen die für die Saccharomyceten unerläßliche Eigenschaft der Sproßbildung mangelt.

Seit den botanischen Untersuchungen an *Saccharomyces* Meyen durch Rees (79) im Jahre 1870 und den ersten Berichten von Schmitz (87) über einen Zellkern in diesen pflanzlichen Gebilden, ist durch eine große Reihe von eingehenden Studien die Frage des feineren Baues der Hefezelle einer Lösung nähergebracht worden.

Die die *Saccharomyces*-Vegetation zusammensetzenden Sproßzellen oder Hefezellen sind von verschiedener Form und Größe. Diese Verschiedenheiten sind nun durch eine Reihe von äußeren Einflüssen bedingt, wie Art und Weise des Nährbodens, sein Gehalt an vergärbaren Substanzen, Zuckern, dann die Züchtungstemperatur, der ungehinderte Zutritt von Luft, die Lage der einzelnen Zellen zueinander nach H. Wills eingehenden Untersuchungen an Riesenkolonien und andere Bedingungen mehr. Wieder unter anderen, besonders von E. Chr. Hansen und seiner Schule näher studierten Bedingungen wird die Sproßzelle in einen Ascus mit Endosporen umgewandelt.

Im allgemeinen finden wir in der Sproßzelle alle jene Bestand-

teile wieder, die wir in anderen pflanzlichen Zellen zu sehen gewohnt sind. Ein Protoplasmaklumpchen ist von einer ziemlich festen, verschieden dicken Zellhaut umgeben. Das Zellplasma enthält einen Kern und eine Reihe von geformten Einschlüssen und Vakuolen oder Safräumen. An dem Zellkern spielen sich nun zur Zeit der Vermehrung durch Sprossung oder Sporenbildung komplizierte Vorgänge ab, die mit der Mitose und Amitose höherer Pflanzenzellen große Aehnlichkeit besitzen.

A. Die Zellhaut.

Diese umgibt allseits den Plasmakörper als mäßig lichtbrechende, ungefärbte Hülle von sehr variabler Dicke und Festigkeit. In einzelnen Fällen unter besonderen Bedingungen beobachtete Henneberg (41) an Hefezellen eine außerordentlich dünne Haut, so daß die stark vergrößerten Zellen ihre Form amöboid zu ändern vermochten und zwar mit einer Schnelligkeit, daß es nicht anging, ihren Umriß mit dem Zeichenapparat zu skizzieren. Es handelte sich dabei um pathologisch veränderte Hefezellen, deren Dasein nur mehr kurz war. Nach den Untersuchungen von C. Becker (4) beträgt die Dicke der Zellhaut von der Betriebshefe für Münchener Lagerbier $0,5 \mu$ im Mittel, die auf $0,7-0,9 \mu$ ansteigt, wenn höher konzentrierte Würze vergoren wird. Die Frage, ob die Zellhautdicke als konstantes Merkmal einer gewissen Hefespecies verwertet werden kann, muß zur Zeit offenbleiben, wenn auch Henneberg (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. 1904) bei ober- und untergäriger Hefe eine mehr oder minder feste und dicke Zellmembran als dauernd angibt. Im allgemeinen kann gelten, daß junge Sproßzellen eine dünne, lebend kaum wahrnehmbare Zellhaut besitzen, die mit dem Alter der Zelle an Dicke und Festigkeit zunimmt, daher leichter ohne besondere Hilfsmittel zur Anschauung gelangt und nach H. Will nicht über $0,5 \mu$ dick ist. Sobald aber besondere Ernährungs- und Wachstumsbedingungen obwalten, wie z. B. im Hefering, nimmt die Dicke der Haut ganz bedeutend zu und erreicht nach den Angaben von Will (101) bei den als „Dauerzellen“ bekannten Formen eine Dicke von $0,7-0,9 \mu$, mitunter auch von 1μ .

An diesen stark verdickten Membranen der Dauerzellen konnte zuerst Will (101) eine Schichtung beobachten, die besonders nach einer Salzsäurebehandlung deutlich wird. Man sieht gewöhnlich zwei Schichten, mitunter gewahrt man eine Mehrschichtigkeit. Zu ähnlichen Ergebnissen über die Beschaffenheit der Zellhaut gelangte Casagrandi (11). Der genannte Autor unterscheidet sowohl an alten als auch an jungen Zellen mit noch sehr dünner Membran eine äußere und innere Schicht, von denen die letztere noch weitere Schichtungen aufweisen kann. Demgegenüber gibt Becker (4) an, daß er weder an jungen noch an gewöhnlichen Brauereihefen nach der Gärung eine Schichtung der Zellhaut beobachten konnte, außer nach 3-wöchentlichem Wachstum in hochprozentigen Würzen und nach Behandlung mit 1-proz. Chromsäure- oder Osmiumsäurelösung. In diesen Fällen waren aber auch nur zwei Schichten nachweisbar.

Wenn die Zellhaut sich verdickt, lösen sich äußere Membranpartieen ab, eine Erscheinung, die zuerst Lindner (65) an *Torula* sah und H. Will sowohl an Alkoholhefen als auch an *Mycoderma* beobachtete.

An der Zellhaut der gesunden Saccharomycetenzelle finden sich keine Lücken oder präformierte Oeffnungen, wie Bizzozero (Sui microfoli dell'epidermide umana. Atti Acc. Torino. 1894) für die innerste Schicht angibt, die nach ihm von zahlreichen feinen Poren durchsetzt sein soll. Casagranti (l. c.) führt die unwahrscheinliche Annahme auf eine Täuschung zurück, die durch viele Anheftungsstellen der äußeren Protoplasmaschicht an der Zellhaut hervorgerufen wurde. Diese Anheftungsstellen sollen durch Narbenbildungen überall dort zustande kommen, wo sich Knospen abgeschnürt haben.

Nach Casagranti (l. c.) wird die Zellhaut der Hefezellen von den meisten Anilinfarbstoffen nur äußerst schwierig und wenig gefärbt, eine Ausnahme macht die Ehrlich'sche Methylenblausolution und das Hansteinsche Anilingemisch, welches besonders in der Wärme nach Behandlung der Zellmembranen mit 2-proz. Essigsäure oder saurem Alkohol diese gut tingiert. Das sonst sehr kräftig färbende Karbolfuchsin und Karbolsafranin bewirkt ebenfalls eine schwache Tinktion der Membranen. Demgegenüber erhielt Becker (l. c.) in keinem Falle eine unmittelbare Färbung der Zellhäute, welche selbst im Hansteinschen Anilingemisch erst nach 3 Wochen nicht sehr deutlich gefärbt waren und den aufgenommenen Farbstoff schon nach mehrmaligem Auswaschen in Wasser wieder leicht abgaben.

Bezüglich der Chemie der Zellwand der Saccharomycetenzelle verweise ich auf die Ausführungen Casagranti's (11) und die Zusammenstellung von H. Will (104) in Lafars Handbuch der technischen Mykologie, wo die einschlägige Literatur genau angegeben ist.

Im Zusammenhang mit der Zellhaut soll das von E. Chr. Hansen (35) zuerst beobachtete und benannte „gelatinöse Netzwerk“ kurz behandelt werden. Dieses läßt sich durch Zuckerlösungen sichtbar machen und gibt mit Jod keine Blaufärbung. Es liegen darin die Zellen eingebettet und werden bei Färbeprozeduren leicht herausgespült, wobei dann das Netz auf dem Objektträger restiert. Nach einer späteren Mitteilung Hansens (37) findet sich diese Netzbildung häufig in Hautbildungen, dann sowohl im gewöhnlichen Brennerei-, Brauerei- und Preßhefeerzeugungsbetrieb als auch bei der Kultur auf dem Gipsblock und in Gelatine.

Das gelatinöse Netzwerk ist wohl in erster Linie auf eine Verschleimung der äußeren Zellhautpartieen zurückzuführen. In diese Schleimmassen können dann noch die bei der Gärung in der Nährsubstanz auftretenden Substanzen eingelagert werden, wie beispielsweise Eiweißkörper und andere Beimengungen der Kulturflüssigkeit, wodurch mitunter eine Färbung des Netzwerkes zu stande kommen kann.

Nach den Beobachtungen von H. Will (102) müssen jene Netzbildungen unterschieden werden, die die Dauerzellen einschließen, ohne weiteres sichtbar sind und keine Eiweißreaktionen geben, und solche aus älteren schleimigen Kahmhäuten, welche erst nach einer besonderen Präparation sichtbar werden und alle Eiweißreaktionen geben. Dann sind noch jene häutigen Ausscheidungen zu nennen, welche an der Würzeoberfläche auftreten und in der Umgebung von Hefezellen ebenfalls Netzform annehmen können und auch Eiweißreaktionen aufweisen und endlich das „krystallinische Netzwerk“. Diese Netzbildungen können nun entweder durch Verschleimung der Zellwände allein zu stande kommen oder es treten noch schleimige Aus-

scheidungen aus dem Zellinnern hinzu, abgesehen von den schon genannten Einlagerungen aus dem Kulturmedium. Nach den Angaben von Will (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. 1904) kommt es zu einer Verschleimung der Zellhäute in sehr ausgedehntem Maße, besonders bei den Zellen in den mittleren Partien der Riesenkolonien von Bierhefe bei der Zucht auf 10-proz. Würzegeatine. Es kann übrigens die Verschleimung und Verquellung so weit gehen, daß Kulturflüssigkeiten gelatinös erstarren.

B. Der Zellinhalt.

I. Der Protoplastkörper.

Der Protoplastkörper der Saccharomyceten zelle zeigt einen mehr oder minder ausgeprägten, wabigen oder netzartigen Bau und eine körnige Struktur (vergl. Janssens und Leblanc, 52). Die Randschicht erscheint homogen und liegt im optischen Querschnitt als feine helle Linie der Zellwand an. Ein ebenso aussehendes hyalines Hautplasma umgrenzt in dünner Schicht kleine oder größere, mit einem matten flüssigen Inhalt erfüllte Hohlräume, Safräume oder Vakuolen, die mitunter feste, geformte Einschlüsse beherbergen. Im körnigen oder schaumigen Protoplasma (Polioplasma) liegen ebenfalls eine Reihe von geformten Einschlüssen, die ganz allgemein als Granula bezeichnet werden. Außerdem ist das Körnerplasma von einem eigentümlichen Kohlehydrat, dem Glykogen, mehr oder minder stark durchsetzt, entsprechend gewissen physiologischen Zuständen (vergl. H. Will, 100).

Nach dem jeweiligen Zustand der Saccharomyceten zelle ändert sich das Bild des Zellinhaltes. Mit zunehmendem Alter und Abnahme der Nährstoffe im Kultursubstrat werden besonders Aenderungen in Bezug auf die Menge der geformten Einschlüsse und der Vakuolen augenfällig. Ueber die Natur der zahlreichen Protoplasmaeinschlüsse, auch Granula genannt, die in der ungefärbten, lebenden Zelle durch verschieden starkes Lichtbrechungsvermögen sichtbar werden und gegen Reagentien ein differentes Verhalten aufweisen, herrschten sehr verschiedene Anschauungen.

Wohl den weitgehendsten Einblick in den feineren Bau dieser Gebilde geben uns die Untersuchungen von H. Will (101). Der genannte Forscher konnte feststellen, daß es mindestens zwei Arten von Granula gibt, deren wesentlicher Unterschied darin liegt, daß die von ihm als „Oelkörperchen“ bezeichneten Gebilde variabler Größe aus einer eiweißartigen Grundsubstanz aufgebaut sind, die ein fettartiger Körper durchsetzt, während die „Oeltröpfchen“ einer eiweißartigen Grundlage entbehren. Casagrandi (11) spricht ebenfalls von einem protoplasmatischen Gerüst der Granula, die er übrigens für vollständig gleichartig erklärte. Die die Oeltröpfchen bildende und die Oelkörperchen durchsetzende fettartige Substanz ist nicht zu allen Zeiten der Entwicklung gleichartig, vielmehr nach dem Alter und dem physiologischen Zustand der Zelle verschieden, wie aus der Schwefelsäurereaktion von Will (101) geschlossen werden kann.

Behandelt man Saccharomyceten zellen längere Zeit mit fettlösenden Mitteln, wie Aether-Alkohol, Benzol, Benzin, Schwefelkohlenstoff etc., erfolgt eine langsame Lösung der Fettsubstanzen in den Granula und bei den Oelkörperchen restiert eine häutige Hülle, die mitunter von netzartig ausgespannten und untereinander

verbundenen Fäden erfüllt ist. Diese Restsubstanzen geben Eiweißreaktionen und verschwinden bei der Magensaftverdauung, woraus auf das Fehlen von Nuklein von Raum, Janssens und Leblanc und auch Guilliermond geschlossen wird. Für die Fettnatur der Oelkörperchen und Oeltröpfchen sprechen neben anderen mikrochemischen Reaktionen auch die Bräunung bei der Behandlung mit Ueberosmiumsäure, wobei aber oft eine Veränderung der Form der Granula nach den Angaben von Will (103) und Klöcker (57) zu beobachten ist, und die Färbbarkeit bei der Anwendung bestimmter Fettfärbungsmethoden, worüber unter den Forschern eine große Einhelligkeit herrscht. Nur Raum (80) und Krasser (62) wollen die Osmiumbräunung nicht beobachtet haben.

Die Konsistenz der Granula ist nach Will (101) eine halbweiche und kann mitunter ziemlich fest werden. Allerdings tritt mit zunehmender Härte und Festigkeit auch eine Umformung derselben auf. Sie sind dann nicht mehr rundlich, sondern eckig und krystalloid, wie sie Hieronymus (43) und andere beschrieben. Die Oeltröpfchen sind bedeutend dünnflüssiger.

An den bisher genannten Einschlüssen sehen wir gewöhnlich keine Eigenfarbe. Es wurden aber auch gefärbte, fettartige Plasmaeinschlüsse von Will (102) in den Zellen von *Saccharomyces Ludwigii* beobachtet, die durch ihre rotgelbe Farbe auffielen. Auch von Janssens und Mertens (53) konnte die Rotfärbung der roten *Torula* auf sehr stark lichtbrechende, rotorangegefärbte Inhaltkörper zurückgeführt werden, die aber nicht fettartiger Natur zu sein scheinen.

Außer den bereits genannten Untersuchungen über Hefegrana liegen noch solche vor von Raum (80), P. Ernst (18, 19), Krasser (l. c.), Hieronymus (l. c.), Curtis (12), S. Eisenschitz (16, 17), Guilliermond (25) u. a.

Die Auffassung von Hieronymus, nach der die Granula in bestimmter Anordnung durch einen „Zentralfaden“ protoplasmatischer Natur verbunden in spiralförmiger Linie im Zellinnern angeordnet sind, wurde nur von einem kleinen Teil der Forscher bestätigt, so teilweise unter anderen von O. Casagrandi (l. c.) in Bezug auf *Saccharomyces cerevisiae*, in dessen Zellen die Granula auch bestimmt angeordnet sein sollen, jedoch mit der Einschränkung, daß die Lagerung keinesfalls durchweg so regelmäßig ist, wie von Hieronymus angegeben wurde. Zimmermann (112) bringt über diese Fragen Beobachtungen von Görtz, nach denen niemals eine besondere Anordnung der Granula im Sinne von Hieronymus zu sehen war. Auch R. u. W. Albert (1) sprechen sich für eine unregelmäßige Anordnung derselben aus.

Bezüglich der Gleichwertigkeit der Granula in der Saccharomycetenzelle gehen die Anschauungen der Forscher auseinander. Wie schon gesagt, unterscheidet Will zwei Arten derselben, während Casagrandi nur eine Art anerkennt, deren verschieden große und färbbare Vertreter sich nur im Alter unterscheiden. Eisenschitz (l. c.), Curtis (l. c.) und andere schlagen dagegen eine Einteilung der Granula in mehrere Gruppen vor.

Nach färberischen Eigentümlichkeiten dieser geformten Zelleinschlüsse stellte sie Guilliermond (25, 27, 29) den metachromatischen Körperchen von Babes und den roten Körpern von Bütschli gleich und bezeichnet sie „les corpuscules métagromatiques“, wobei nur hervorgehoben sei, daß sich diese Mit-

teilungen wohl in erster Linie auf die Inhaltskörper der Vakuolen beziehen.

Im allgemeinen färben sich die genannten Einschlüsse mit Anilinfarben gut, doch scheint in der verschiedenen Färbbarkeit derselben, beispielsweise mit Methylenblau, kein Unterscheidungsmerkmal für sie zu liegen, da je nach der Färbedauer mit der erwähnten Farbflotte eine violette, blaue oder rote Farbe derselben resultiert (Guilliermond). Diese Unterschiede in der resultierenden Farbe sollen übrigens nach Mitteilungen von Kunstler und Busquet (64) eine physikalische Ursache haben und durch Diffraktion entstehen.

Auch bei Vitalfärbungen nehmen die Granula Farbstoffe auf. So erhielt Eisenschitz (17) Färbung derselben nach Zusatz von Benzopurpurinlösung, Kongorot oder Methylgrün zur Kulturflüssigkeit. Auch Methylenblau- und Neutralrotlösungen bewirken eine Tinktion derselben. (Vergl. auch P. Ernst [19]). Jüngst hat nun Bokorny (113) die Tatsache mitgeteilt, daß nicht nur Farben, wie Methylenblau, von der Hefezelle gespeichert werden, sondern auch Salze von Schwermetallen.

Nach mehrfachen Mitteilungen kommt den Granula auch eine mehr oder minder ausgesprochene Bewegungsfähigkeit zu. Darüber berichten Raum (l. c.), Hieronymus (l. c.) und besonders Eisenschitz (l. c.), die sogar eine Auswanderung der Granula aus dem Plasma wahrgenommen haben will, worin wieder B. Fischer (23) die Einleitung zur Knospenbildung erblickt, eine längst als falsch erwiesene Annahme. Daß die häufig der Zelle außen angelagerten beweglichen Partikelchen eben ausgewanderte Granula im Sinne Ernsts sind, bezweifelt mit Recht H. Will (vergl. 104 p. 79).

Neben den Oelkörperchen und Oeltröpfchen, kurz Granula, enthält die Saccharomycetenzelle noch Vakuolen oder Safräume. Entweder besitzt die Zelle 1—2 größere Vakuolen oder viele kleine, aus denen dann durch Verschmelzung oder Zusammenfließen eben die größeren entstehen, welche entsprechend dieser Entstehung noch eine Kammerung aufweisen können oder im Innern von zahlreichen Strängen durchzogen erscheinen. Die Safräume sind rund oder oval und erscheinen im optischen Querschnitt von einer hellen, homogenen Linie umzogen, dem hyalinen Protoplasma. Ihr Inhalt, der Zellsaft, ist flüssig und besitzt ein geringeres Lichtbrechungsvermögen als das umgebende Cytoplasma, erscheint also matt, wenn nicht besondere Einschlüsse von höherem Lichtbrechungsvermögen die ganze Vakuole ausfüllen, wie Will (103) für *Mycoderma* feststellte. Der Zellsaft ist zumeist farblos, kann aber unter gewissen Bedingungen, besonders nach Zusatz von Magnesiumverbindungen zu den verwendeten Nährlösungen, eine rosarote Farbe annehmen, wie Schander (83) zeigt.

In der Vakuole treffen wir häufig geformte Einschlüsse von verschiedenem Aussehen und mitunter Kristallform, wie H. Will (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. 1893), Hieronymus und Raum berichten. Die kleineren festen Vakuoleneinschlüsse zeigen die Brownsche Molekularbewegung. Eine Auswanderung der Granula ins umgebende Cytoplasma im Sinne von S. Eisenschitz (l. c.) scheint zumindest sehr unwahrscheinlich.

Entsprechend den Untersuchungen von Wager (95) und Guilliermond (27) hätten wir zwei Arten von Vakuolen zu unterscheiden, solche vom eben beschriebenen Typus und solche, die der

Aufspeicherung von Glykogen dienen, abgesehen von der Kernvakuole Wagers. Wie nun Will (104, p. 66) ganz richtig nachweist, scheint es sich bei den Glykogenvakuolen um einen Irrtum zu handeln, der seinen Grund in Erscheinungen hat, die infolge Einwirkung wasserentziehender Agentien in der Zelle auftreten. Trotzdem können bei Ueberfüllungen der Zelle mit Glykogen kleine Mengen desselben in Vakuolen eindringen, wie Guilliermond berichtet und Will mit dem Beifügen bestätigt, daß es kein normaler Vorgang sei. Wir wissen ja, daß das Glykogen in mehr oder minder großer Menge das Cytoplasma durchsetzt.

II. Der Kern der Hefezelle.

Die Kernfrage bei der Hefe hat seit langem eine Reihe von Forschern beschäftigt, ohne daß sie zur Zeit als vollständig gelöst betrachtet werden kann. Daß die Hefezelle einen Kern besitzt, kann jetzt wohl als sichergestellt gelten, wenngleich noch einige Forscher dessen Existenz nicht anerkennen, wie Krasser (61, 62), Raum (80), Eisenschitz (16, 17), Macallum (68) und endlich Hieronymus (43), welcher letzterer seinen früher beschriebenen Zentralfaden mit Granula den Kern vertreten läßt.

Von der Existenz eines Kernes in der Hefezelle können wir uns einmal durch färberische Erscheinungen überzeugen, andererseits auch durch gewisse chemische Reaktionen, die in der Hefezelle auf Substanzen hinweisen, die als spezifische Kernbestandteile überall erkannt wurden. So hatte zuerst Eréra, dann Kossel (60) u. a. das Nuklein, eine besonders im Zellkern verbreitete Eiweißverbindung, aus Hefezellen dargestellt. Ueberdies hat noch eine Anzahl von Forschern in ungefärbten und noch lebenden Hefezellen einen Kern gesehen, wie Chr. Hansen (36) an *Saccharomyces Pastorianus* I und *Saccharomyces ellipsoideus* I, wenn er die Zellen in Wasser oder im Glyceringemisch von Hantsch suspendierte. Schon im Jahre 1844 hat Nägeli (75) den Kern von Bier- und Weinhefzellen als „ein der Membran anliegendes kleines Körnchen von weißlichem Schleime“ beschrieben, eine Beobachtung, die 5 Jahre später von Schleiden (86) bestätigt wurde. Wenn diese Befunde Nägelis und Schleidens nicht ungeteilten Beifall fanden und von Brücke (8) in einer Notiz negiert wurden, darf dies bei der mangelhaften Beschaffenheit der damaligen optischen Hilfsmittel keineswegs wunder nehmen.

Auch Möller (72, 73, 74), Buscalioni (9), Wilhelmi (99) und Will (104) haben den Kern in ungefärbtem Zustande beobachtet und beschrieben; der zuletzt genannte Autor aber nur bei sporenbildenden Zellen von obergäriger Bierhefe in Würzekulturen. Es ist wohl selbstverständlich, daß bei einer direkten Beobachtung des Kernes in der ungefärbten Zelle von einer Erkennung der feinsten Strukturdetails wegen der Kleinheit dieser Objekte nicht die Rede sein kann. Was wir jetzt darüber wissen, verdanken wir ausschließlich den Untersuchungen von gefärbten Hefepräparaten. Bezüglich der angewendeten Tinktionsmethoden muß auf die einzelnen Originalarbeiten verwiesen werden. Im übrigen sei nur bemerkt, daß darüber mitunter recht mangelhafte Mitteilungen gemacht werden, die eine Nachuntersuchung sehr erschweren.

Allen Ergebnissen von Untersuchungen gefärbter Präparate haftet

allerdings der Mangel an, daß sie auf gewissen tinktoriellen Eigentümlichkeiten der in Rede stehenden Kerne fußen, obgleich es eigentlich kein spezifisches Kernfärbungsmittel gibt und in der Hefezelle sich noch andere Dinge, wie Granula, färberisch ebenso verhalten, wie die allgemein als Kerne gedeuteten Gebilde. Dieser Mangel wird aber dadurch bis zu einem gewissen Grade kompensiert, daß sich an diesem als Kerne erklärten Gebilde zur Zeit der Sprossung und Sporenbildung Veränderungen abspielen, die mit den Kernveränderungen bei der Teilung höherer tierischer oder pflanzlicher Zellen die größte Ähnlichkeit zeigen und als physiologisches Merkmal für den Begriff „Zellkern“ gelten können.

Seitdem Schmitz (87) das erste Mal den Zellkern der Hefe mit Hämatoxylin färbte und als kleines blaues Pünktchen beschrieb, haben ihn eine große Anzahl von Forschern bei den verschiedenen Hefen tingiert und seinen feineren Bau untersucht. Ich erwähne die Arbeiten folgender Autoren: Hansen (36), Zalewski (106), Zacharias (105), Mann (70), Möller (72, 73, 74), Dangeard (13), Maffuci und Sirleo (69), Wager (95), Henneguy (42), Zimmermann (110, 111, 112), Buscalioni (9), Casagrandi (11), Wilhelmi (99), Janssens und Leblanc (52), Bouin (6), Erréra (20), Hoffmeister (46), Feinberg (21), Guilliermond (25, 27), Marpmann (71), Hirschbruch (44, 45), Raýman und Kruis (81), Janssens (50, 51), Swellengrebel (92), Fuhrmann (24) u. a.

Die dabei erhaltenen Resultate sind aber keineswegs eindeutig, und selbst über das, was von dem Zellinhalt der Hefe zum Kern zu rechnen ist, herrschen verschiedene Meinungen. Wir wollen uns zunächst mit der feineren Struktur des ruhenden Kernes der Hefe näher befassen.

Die Gestalt des Zellkernes der Hefe wird von den verschiedenen Autoren etwas verschieden beschrieben. Schmitz (87), Dangeard (13), Feinberg (21) u. a. bezeichnen sie als kugelförmig, während Hansen (36) in einigen Fällen einen scheibenförmigen Kern beobachtet hat. Nach Hoffmeister (46) besitzt der Zellkern die Gestalt einer einseitig zusammengepreßten Kugel. Uebrigens ist die Form des Kernes in erster Linie von dem herrschenden physiologischen Zustand der Zelle abhängig, womit die etwas differierenden Angaben der einzelnen Untersucher ungezwungen untereinander in Einklang gebracht werden können, nachdem die ersten Stadien der Kernteilung nicht leicht zu erkennen sind. Außerdem kann natürlich die Behandlung der Zellen mit unzulänglichen Fixierungsmitteln, dann das Austrocknen derselben bedeutende Veränderungen der Kernform zur Folge haben [vergl. Will (13) und Hoffmeister (46)].

Ebenso sind Schwankungen in der Größe des Zellkernes der Hefe erklärbar, wenn sie im allgemeinen auch nicht als so groß angenommen werden können, wie es Moeller tat. Nach Untersuchungen von Guilliermond beträgt die Größe des Zellkernes von *Saccharomyces cerevisiae* 1,7—2 μ . Die Abbildungen der Hefezellen mit ihren Kernen von den meisten anderen Autoren lassen auf eine annähernd gleiche Größe schließen. Nur Zalewski (106) beschreibt bei *Saccharomyces ellipsoideus* Rees, *Saccharomyces apiculatus* und *Mycoderma vini* einen Zellkern, dessen Größe $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{4}$ des ganzen Zelldurchmessers ausmacht, eine Angabe, die sehr unwahrscheinlich ist.

Die Lage des Zellkernes in der Zelle scheint im allgemeinen keine gesetzmäßige zu sein. Auch der Ort der entstehenden Sprosse beeinflußt für gewöhnlich die Lage des Kernes nicht, obgleich Guilliermond für *Saccharomyces anomalus* etwas Derartiges angibt.

Der ruhende Kern besitzt im allgemeinen eine Membran, ein Kernplasma und eine chromatische Substanz. Bezüglich letzterer unterscheidet Guilliermond zwei Möglichkeiten: Entweder findet sich nur ein Chromoplast oder dessen Stelle vertreten mehrere chromatische Granula oder Elemente, wie beispielsweise bei *Saccharomyces ellipsoideus* oder *Pastorianus* u. a. Besonders schön ist die feinkörnige Anordnung des Chromatins im Kern von *Saccharomyces ellipsoideus* I Hansen zu beobachten, wenn man mit Eisenlack färbt. Es fällt dann sehr oft ein einziges besonders großes Korn unter den anderen auf, welches formell ganz einem Nucleolus gleicht [Fuhrmann (24)]. Feinberg (21) bestreitet allerdings im Hefekern einen echten Nucleolus, weil er mit der von Romanowsky bei den Malariaplasmodien zuerst angewandten Färbung mit Methylenblau-Eosin nur rotgefärbte Chromatinsubstanz zur Anschauung bringen konnte, aber niemals einen blaugefärbten Körper im Kern erhielt. Der genannte Autor bestätigte auch die von Ziemann (108) und Zettnow (107) mit der gleichen Tinktionsmethode erhaltenen Ergebnisse an der Hefezelle.

Zu Beginn und im weiteren Verlauf der Gärung kommt es nach den Untersuchungen von Janssens und Leblanc (52) bei den meisten Hefen zu einer feinen Vakuolisierung des Kernplasmas, eine Erscheinung, die bei *Saccharomyces Ludwigii* und *Schizosaccharomyces octosporus* niemals beobachtet wurde.

Originell ist die Anschauung Wagers (95) von dem Kernapparat der Hefezelle. Der genannte Autor beschreibt diesen bestehend aus einer Vakuole, welche ein chromatisches Netzwerk nebst Granula enthält, und einem in deren Nähe liegenden Nucleolus. Zu einer etwas ähnlichen Anschauung kommt jüngst wieder Janssens (51), indem er den Kern wenigstens zu Beginn der Gärung in einer Vakuole liegend beobachtet haben will. Hirschbruch (44) nimmt einen Kernhof an, der nicht einer Vakuole gleichzustellen ist, sondern aus einer Flüssigkeit von größerer Verschieblichkeit als das Protoplasma bestehen und Mikrosomen und Granula einschließen soll. Auch soll er weder gegen das Zellprotoplasma noch gegen den eigentlichen Kern durch eine Membran abgegrenzt sein. Swellengrebel (92) und Fuhrmann (24) weisen darauf hin, daß der vermeintliche Kernhof Hirschbruchs nichts anderes als eine in der Nähe des Kernes liegende, nicht aber zu diesem gehörige Vakuole ist, da sehr häufig der Kern von einer hellen Linie durchschnitten wird, die die Umgrenzung der genannten Vakuole vorstellt. Liegt letztere nun gerade oben oder unter dem Kern, so wird um diesen ein heller Hof sichtbar, der aber natürlich nicht als Kernhof aufgefaßt werden darf.

Teilung des Hefekernes bei der Sprossung.

Sobald sich die Hefezelle zur Bildung einer Knospe anschickt, spielen sich am Kern Vorgänge ab, deren Endresultat darin besteht, daß zwei Tochterkerne gebildet werden, von denen der eine in der Mutterzelle verbleibt, während der andere in die junge Knospe einwandert. Es erhebt sich nun die Frage, nach welchem Modus diese Teilung statthat. Es ist ja dabei allem Anscheine nach eine direkte Kernteilung mindestens ebensogut denkbar als eine vollständige Karyokinese. Es könnte sich auch um eine vereinfachte Mitose handeln. Und in der Tat finden wir in der Literatur Vertreter für jede dieser Anschauungen.

Für eine Teilung des Hefekernes durch einfache Fragmentation sprachen sich zuerst Moeller (72, 73, 74) und Dangeard (13) aus, dann Buscalioni (9) und Wager (95). Demgegenüber will Janssens (50) bei der Sprossung eine Karyokinese mit ausgebildetem Spindelapparat beobachtet haben. Letztere Befunde konnte Marpmann (71) zwar nicht bestätigen, glaubt aber auch, daß eine Mitose vorliegt. Auch Hoffmeister (46) teilt diese Anschauung teilweise, meint aber, daß es sich bei diesem Vorgang um eine vereinfachte Karyokinese handelt. Nach Hirschbruch (44) findet bei der Sprossung ebenfalls eine mitotische Teilung statt, auf die wir noch im besonderen zurückkommen. Swellengrebel (92) und Fuhrmann (24) haben auch eine karyokinetische Teilung des Kernes bei der Sprossung beobachten können.

Die Teilung des Kernes und die Sproßbildung bei *Saccharomyces Ludwigii* vollzieht sich nach den Angaben von Janssens und Leblanc (52) meistens in der Weise, daß unter Bildung einer mehr oder minder deutlichen Spindel zwei Kernhälften entstehen, deren eine in den vorher gebildeten noch jungen Sproß einwandert. Die früher genannte Spindel verbindet als Fadengerüst beide Teilstücke und bildet im engen Verbindungskanal zwischen Knospe und Mutterzelle eine Art Zellplatte, von der die Scheidewandbildung zwischen Mutter- und Tochterzelle eingeleitet wird. Nach diesen Befunden scheint es sich um eine rudimentäre Mitose zu handeln, die unter Umständen auch durch eine Fragmentation ersetzt werden kann, ein Standpunkt, auf dem auch Guilliermond steht.

Hirschbruch (44) statuiert den Kernteilungsvorgang an *Saccharomyces ellipsoideus* I Hansen folgendermaßen: Der ruhende Kern vergrößert sich im Kernhof und füllt diesen schließlich ganz aus, worauf etwas seitlich vom Zellpole ein für Methylenblau mit großer Affinität ausgestattetes Körperchen (dargestellt durch Nachfärbung der mit Fuchsin tingierten Präparate mit Methylenblau), gerade an der Stelle auftaucht, wo die künftige Knospe entsteht. Kern und blauer Körper vermischen sich nun, worauf auch die bei der Färbung mit Fuchsin und nachträglicher Tinktion mit Methylenblau Violettfärbung des aus den gemischten Bestandteilen zusammengesetzten neuen Kernes zurückzuführen ist. Dieser befruchtete Kern teilt sich nun mitotisch in zwei Tochterkerne, von denen der eine nur mit einer sehr dünnen Schicht mütterlichen Protoplasmas bekleidet, die Mutterzelle gleichsam verläßt und erst allmählich mit neugebildetem mütterlichen Protoplasma in größerer Menge umgeben wird. Nachdem gewöhnlich zuerst in der Mutterzelle sich der Kern mit einem Hof umgibt und dasselbe auch in der Tochterzelle geschehen ist, findet die Trennung statt. In dem befruchteten Kern will nun Hirschbruch noch die feinsten Details bei der Entstehung der Kernplatte, der Aufteilung des Chromatins in Fadenform und der Teilung dieses Fadens in zwei Tochteranteile beobachtet haben. Diese Befunde von Hirschbruch stehen bisher in der Literatur allein da und fanden keine Bestätigung von seiten anderer Untersucher. Fuhrmann (24) konnte trotz sorgfältiger Nachuntersuchung von einem männlichen und weiblichen Kern in jeder Zelle nichts beobachten, und es erscheint merkwürdig, daß gerade der männliche Kern eine so große Affinität zum blauen Farbstoff des Methylenblau besitzt und als dunkelblauer Körper auffällt, mit anderen Worten kein Chromatin enthält, denn dieses färbt

sich intensiv mit dem im Methylenblau vorhandenen roten Farbstoff, wie überaus zahlreiche Untersuchungen klar erwiesen haben. Dieser von Hirschbruch entdeckte männliche Kern der Hefe stellt also ein vollständig chromatinfreies Gebilde dar. Ob nun etwas Derartiges überhaupt die Bezeichnung Kern im üblichen Sinne des Wortes erhalten darf, erscheint zumindest sehr fraglich.

Aus den Untersuchungen von Swellengrebel (92) und Fuhrmann (24) geht klar hervor, daß die Teilung des Zellkernes von *Saccharomyces ellipsoideus* Hansen auf mitotischem Wege erfolgt, und zwar unter Ausbildung eines Spindelapparates, den besonders der letztgenannte Autor genau beschreibt. Das Vorhandensein eines Centrosomas konnte allerdings von beiden Autoren nicht mit Sicherheit festgestellt werden. Außerdem scheint es beiden bis zu einem gewissen Grade gelungen zu sein, die Zahl der aus dem Knäuelstadium sich herausdifferenzierenden Chromosomen festzusetzen. Es dürften aller Wahrscheinlichkeit nach 4 Chromosomen sich ausbilden, die dann nach ihrer Spaltung zum Monaster zusammentreten. Die Teilstücke wandern hierauf an einer Spindel von achromatischer Substanz polwärts, wobei noch Verbindungsfäden zwischen den Teilstücken bestehen bleiben, während die Mehrzahl der Fäden sich mit den Tochterchromosomen gegen die Spindelpole zurückzieht [vergl. Fuhrmann (24)]. Die beiden Teilstücke bilden dann wieder eine Art Knäuel, der in den ruhenden Kern übergeht. Die Ueberwanderung des einen Tochterkernes in die Knospe pflegt meistens im Knäuelstadium zu erfolgen.

Verhalten des Kernes bei der Sporenbildung.

Sobald die Saccharomycetenzelle behufs Sporenbildung zum Ascus wird, spielen sich am Cytoplasma und Kern eine Reihe von Vorgängen ab. Nach den Untersuchungen von Janssens und Leblanc (52) teilen sich die Kerne jener Zellen, die zu Ascis werden sollen. Die entstandenen Tochterkerne verschmelzen dann wieder zu einem neuen Kern, der sich wieder teilt. Eine nochmalige Teilung der aus der zweiten Teilung hervorgegangenen Teilstücke liefert erst die Kerne für die keimfähigen Sporen, während diejenigen Sporen, welche mit Kernen versehen sind, die aus der ersten Teilung nicht wieder vereinigter Kernteile hervorgegangen sind, nicht keimfähig sind. Nach den genannten Autoren liegt eben in der Verschmelzung der Teilprodukte der ersten Teilung des Kernes vom angehenden Ascus ein für die Keimfähigkeit der resultierenden Sporen notwendiger Befruchtungsvorgang. Die erste Teilung geschieht nach dem Modus einer vielleicht etwas vereinfachten Karyokinese, während die folgenden Teilungen nur mehr reduzierte Mitosen vorstellen.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.***Einige Beiträge zur mikrobiologischen Bodenkunde¹⁾.**

[Vorläufige Mitteilungen aus der bakteriologischen Abteilung der agrikulturn-chemischen Versuchsstation Halle a. S.]

Von Dr. **Berthold Heinze.****Einleitung:** Einige allgemeine und spezielle Literaturangaben.

Auf dem großen Gebiete der Mykologie bzw. der Bakteriologie, also auf dem gesamten mikrobiologischen Gebiete, dessen Grundlage und glänzender Aufschwung besonders mit den Namen Anton Leeuwenhoek, Louis Pasteur, Robert Koch, Emil Christian Hansen für alle Zeiten innig verbunden ist, hat man bekanntlich schon manche wichtige und auch sichere weitere Erkenntnis gewonnen:

Manches, anscheinend undurchdringliche Dunkel hat man bereits vor längerer Zeit als auf Organismenwirkungen beruhend, zu lichten verstanden, und was von ganz besonderer Wichtigkeit ist, aus den betreffenden Forschungen auch bereits mancherlei praktischen Nutzen ziehen können.

Mit den bisherigen, vielfach überaus wertvollen Untersuchungen auf dem Gebiete der Mikrobiologie, mit einer schon weitgehenden Kenntnis der verschiedensten Organismenwirkungen ist also zugleich die unbedingt notwendige, sichere Grundlage gewonnen worden, von welcher aus man die einzelnen kleineren Gebiete der allgemeinen Mikrobiologie, die mannigfachsten Organismenwirkungen, ihre gegenseitigen Beziehungen und ihre Bedeutung für den Haushalt der Natur zweifellos bis zu einem gewissen Grade allmählich immer besser wird aufklären können.

Sogar im jüngsten Zweige der Mikrobiologie, in der sogenannten landwirtschaftlichen Bakteriologie oder Agrikulturbakteriologie, und innerhalb dieses Forschungsgebietes wiederum in der sogenannten Bodenmikrobiologie hat man bekanntlich in neuerer Zeit u. a. besonders durch die denkwürdigen Arbeiten und Untersuchungen von Hellriegel und Wilfarth, von Winogradski gar manche wichtige Erkenntnis gewonnen, ganz abgesehen von vielen wertvollen Forschungen und Ergebnissen, welche zum großen Teile schon aus älterer Zeit speziell in der Mykologie der landwirtschaftlichen Gewerbe²⁾ vorliegen.

So weiß man nunmehr auch sicher, daß der Boden — [und zwar nicht nur der gewöhnliche Wiesen- und Ackerboden, also unsere durch mehr oder weniger durchgreifende Melioration (Entwässerung, Bewässerung, geeignete Düngung und Bebauung) gewonnenen Kulturböden, sondern auch das jungfräuliche Erdreich der Hochgebirge, die Erde der Urwälder, der noch nicht in Kultur genommenen Ländereien der Tropen, die schwarze, jungfräuliche Erde der Prärien Nordamerikas, der Llanos, Selvas, Pampas Südamerikas, die Erden der Steppen Rußlands, Sibiriens und Mittelasiens, ferner die Erde der ausgedehnten Oedländereien der verschiedensten Gegenden, endlich aber auch das Erdreich der wenig oder noch gar nicht bearbeiteten und sehr selten gedüngten Weideflächen und der zahlreichen Wälder]

1) Anmerkung: Die verwertete Litteratur findet sich am Schlusse der vorliegenden Mitteilung zusammengestellt.

2) Anmerkung: Wie z. B. in der Milchwirtschaft, in der Brauerei, Brennerei, Weinbereitung, ferner auch in der Essig-, Zucker- und Konservenfabrikation etc. Vergl. hierzu Lafars Handbuch der technischen Mykologie etc.

— von mancherlei niederen pflanzlichen Organismen, wie Pilzen, Hefen, Bakterien und Algen reich bevölkert ist, und daß verschiedene im Erdboden sich abspielende Vorgänge gerade durch die genannten Mikroorganismen¹⁾ erst ausgelöst werden, infolgedessen also wenigstens in ihren Ursachen auf Organismenwirkungen zurückgeführt werden müssen; im übrigen trifft man ja bekanntlich leicht erklärlicher Weise derartige Organismen besonders zahlreich immer in denjenigen land- und forstwirtschaftlich benutzten Böden an, welche in sogenannter hoher Kultur stehen.

Freilich ist man über die Biologie der land- und forstwirtschaftlich wichtigen Bodenorganismen, über die Wege zur Fortpflanzung und vor allem auch zu ihrer gedeihlichen Entwicklung und damit zugleich über die Wege zur ausgedehnten Entfaltung ihrer spezifischen Tätigkeit, meist noch sehr im Unklaren und so mußte man sich in dieser Hinsicht bis in die neueste Zeit noch vielfach mit bloßen Vermutungen tragen, welche sich auf Ackerbestellung und Bodenbearbeitung der Altvordern gründen, nachdem diese gewisse Maßnahmen in der Ackerbehandlung als besonders günstig für die Ackererde erkannt hatten, um dieselbe leistungsfähig zu machen und auch weiterhin leistungsfähig zu erhalten.

Eine Begründung der vorgenommenen Maßnahmen konnte naturgemäß früher auch noch gar nicht gegeben werden.

Heute wissen wir einigermaßen sicher, daß durch geeignete Düngung und Bearbeitung, durch Zufuhr und Erhaltung von Luft, Licht, Wärme und Feuchtigkeit gerade die landwirtschaftlich wichtigsten Bodenorganismen in ihrer Entwicklung im allgemeinen wenigstens recht günstig beeinflußt werden, wir wissen, daß den verschiedenen Organismen des Bodens — neben einzelnen synthetischen Prozessen — hauptsächlich das unermessliche Zerstörungswerk der organischen Substanz, d. h. deren allmähliche Mineralisierung und damit deren Ueberführung in wertvolle Pflanzennährstoffe zufällt. Und so bezweifelt wohl heutzutage auch niemand mehr ernstlich den großen Einfluß der Bodenorganismenflora auf den Boden selbst und dessen ganze Beschaffenheit, besonders deren Einfluß auf die Ackererde, nachdem man weiterhin als sicher erkannt hat, daß diese Organismen zu einem Teile wenigstens für das freudige Gedeihen der höheren Pflanzen direkt oder indirekt von wesentlicher Bedeutung sind.

Allerdings sind wir zur Zeit von einer auch nur einigermaßen befriedigenden Klärung der im Boden nebeneinander verlaufenden und aufeinanderfolgenden Prozesse, einer Klärung der mannigfachen Wechselbeziehungen der einzelnen Organismenwirkungen noch recht weit entfernt.

Manche wichtigen Prozesse sind ja teilweise schon ganz gut in ihren Ursachen und Wirkungen klar gelegt; aber zu einer mehr allgemeinen Klärung der mikrobiologischen Prozesse im Boden wird es noch Jahrzehnte langer, mühevoller Arbeit bedürfen.

Einer intensiven, fruchtbringenden, mehr allgemeinen Tätigkeit auf diesem Gebiete war es bekanntlich zunächst auch wenig förderlich, daß

1) Anmerkung: Ueber die diesbez. Bedeutung von Hefen und hefeähnlichen Organismen (wie Torulaformen, sogen. Dematiumhefen u. a.) sind vom Verf. zwar schon einige orientierende Untersuchungen angestellt worden; dieselben haben indessen noch keine besonders bemerkenswerten Resultate ergeben.

man sich in manchen Kreisen noch geraume Zeit ganz besonders skeptisch gegenüber den Ergebnissen der bodenmikrobiologischen Forschung verhielt und zwar trotz der bereits verschiedentlich vorliegenden augenscheinlichen Erfolge.

Dies ist allerdings schließlich auch gar nicht weiter zu verwundern, da man ja seit Liebig gewohnt war, vor allem die Vorgänge im Dünger und im Boden, welche das Arbeitsgebiet der landwirtschaftlichen Mikrobiologie vorwiegend bilden, völlig einseitig vom chemischen Standpunkte aus zu behandeln. Es ist zwar genugsam bekannt, wie besonders Liebig selbst gewohnt war, allen Dingen möglichst auf den Grund zu sehen, aber gerade mit seiner Stellungnahme gegenüber der ganzen Stickstofffrage mußte Liebig naturgemäß einen Fehler begehen, welcher dadurch seine einfache Erklärung findet, daß er glaubte, mit den Hilfsmitteln und den Forschungsergebnissen seiner Zeit den Kreislauf des Stickstoffes in der Natur überblicken zu können. Zahlreiche Forschungen haben später zur Genüge dargetan, daß die Anschauungen Liebig's über die genannte Frage auf unrichtiger Grundlage ruhten. In neuerer Zeit hat sich denn auch, und zwar infolge der vielerorts auch mit einigem Erfolge einsetzenden und rastlos vorwärtsschreitenden Forschung auf diesem Gebiete, ein völliger Umschwung in den Anschauungen über die im Dünger und im Boden sich abspielenden Vorgänge vollzogen, wie oben schon kurz erwähnt bzw. angedeutet werden konnte.

Mehr und mehr hat man seit den epochemachenden Arbeiten von Hellriegel und Wilfarth über die Stickstoffernährung der Leguminosen und der Gramineen sowie den nicht minder wichtigen Forschungen Winogradskis über die Salpeterbildung und weiterhin über die Stickstoffassimilation im Boden es zu verstehen und zu würdigen gelernt, wie in land- und forstwirtschaftlich benutzten Böden gar mancherlei Organismen — Pilze, Hefen, Bakterien und Algen — tätig sind und wie von diesen Organismen ein Teil für das Gedeihen unserer Kulturpflanzen direkt oder indirekt von wesentlicher Bedeutung ist.

Auf alle Fälle sind also manche auf Organismenwirkungen beruhende Prozesse schon weit geklärt; viele aber, wie z. B. die teilweise Bildung und Wiederverarbeitung von Humussubstanzen durch Organismen, die Vergärung von Pektinstoffen, die {neben organischer Säurebildung} unter vorwiegender Bildung von Wasserstoff und Methan, erfolgende Zersetzung der Cellulose, wie überhaupt die sämtlichen in ihrer Gesamtheit die sog. Gare des Ackers bedingenden Vorgänge im Boden, soweit sie wenigstens auf Organismenwirkungen beruhen, harren noch mehr oder weniger ganz der näheren Aufklärung.

I.

Die Verarbeitung des elementaren Stickstoffes der Luft durch niedere pflanzliche Organismen.

Im engsten Zusammenhange mit Organismenwirkungen verschiedener Art steht bekanntlich vor allem auch die gesamte N-Frage, eine Frage, welcher gegenwärtig besonders die ganze landwirtschaftlich gebildete Welt naturgemäß ein großes Interesse entgegenbringen muß und auch zum großen Teile schon entgegenbringt.

Diese Frage gehört obendrein gewissermaßen zu den brennenden

Fragen der Gegenwart in der gesamten landwirtschaftlichen Produktion; zu ihrer Lösung müssen Mittel und Wege ausfindig gemacht werden, durch welche unseren Kulturpflanzen der augenblicklich noch wenig erschlossene Stickstoffvorrat der Natur, besonders der elementare, also ungebundene Stickstoff der Luft, auf billige Art und Weise zugänglich gemacht wird.

In wissenschaftlicher Hinsicht ist die Frage auf chemisch-biologischem Wege (Knöllchenorganismen, Clostridium-Organismen, sogen. Azotobakterorganismen) bereits gelöst; sie darf auch in neuester Zeit in wissenschaftlicher und praktischer Hinsicht auf rein chemischem Wege¹⁾ als gelöst gelten, nachdem es A. Frank gelungen ist, den N der Luft in Form von Calciumcyanamid zu binden und damit vor allem auch ein relativ billiges, preiswertes Düngemittel¹⁾ zu gewinnen.

Doch so außerordentlich wichtig und aussichtsvoll dies ist, so bleibt schließlich die praktische Lösung der N-Bindungsfrage auf chemisch-physiologischem bzw. chemisch-mikrobiologischem Wege, also zum Teil mit Hilfe von Organismen eine Anreicherung des Bodens an Gesamtstickstoff (eine teilweise rein natürliche N-Düngung) zu erzielen, in ihrer Wichtigkeit nach wie vor bestehen.

Mit einer teilweisen praktischen Lösung der letzteren Frage — und zwar mit Hilfe der sogenannten Gründüngung durch Leguminosen — ist nun zweifellos auch bereits ein wichtiger Schritt vorwärts getan worden; nach der Ansicht des Verf. wird man diesen Weg jedoch im allgemeinen nur als Notbehelf betrachten können, ihm aber gleichwohl einen nicht hoch genug anzuschlagenden Studienwert beimessen müssen, zumal noch gar manche auf die Leguminosen und die sogenannten Knöllchenorganismen bezügliche Frage keineswegs endgültig geklärt ist.

Hinsichtlich der Verwertung des elementaren N der Luft durch niedere pflanzliche Organismen [und damit zusammenhängend einer teilweisen Anreicherung des Bodens durch dieselben an Gesamt-N] müssen nun auch nach den speziellen bisherigen Erfahrungen des Verf. schon jetzt als praktisch am wichtigsten bzw. vielversprechendsten entschieden diejenigen frei im Boden lebenden Organismen angesehen werden, welche [wie auch schon durch verschiedene anderweitige Untersuchungen und Beobachtungen wahrscheinlich gemacht wird] nach mannigfachen neueren Untersuchungen des Verf. unbedingt befähigt sind, den freien Stickstoff der Luft in hervorragender Weise zu verarbeiten und zwar zunächst in Form von Körpereisweiß festzulegen; durch ihre reichliche Entwicklung können sie so bei günstigen bodenklimatischen Verhältnissen unsere Kulturböden bis zu einem gewissen Grade an Gesamt-N anreichern. Es sind dies die in ihren Entwicklungsbedingungen schon von verschiedenen Seiten gut studierten und weit verbreiteten sogenannten Azotobakterorganismen²⁾, welche Verf. übrigens u. a. regelmäßig und besonders zahlreich in Bracherden antreffen konnte.

1) Anmerkung: Nach den bisherigen Mitteilungen darüber dürfte wenigstens kaum noch ein Zweifel bestehen, nachdem es, wie schon erwähnt, der modernen Chemie nach A. Frank gelungen ist, den N in Form von Calciumcyanamid bzw. des polymeren Dicyandiamids zu binden und damit in ersterem bei neuerdings erheblich verminderten Herstellungskosten (insbesondere bei Vorhandensein von billiger elektrischer Kraft) ein preiswertes Ersatzdüngemittel für Chilesalpeter zu gewinnen, soweit man wenigstens die ganze Frage gegenwärtig nach der von Gerlach und Wagner u. a. angestellten mannigfachen Vegetations- und Feldversuchen zu beurteilen vermag.

2) Anmerkung: Neuere Untersuchungen und Beobachtungen des Verf. machen

Die praktische endgültige Lösung der biologischen N-Bindungsfrage mit Hilfe dieser Organismen wird nach der Ansicht des Verf. sicher in absehbarer Zeit nicht ausbleiben, nachdem bereits durch geeignete, sorgfältige Untersuchungen von Krüger und dem Verf. es mehr als wahrscheinlich gemacht werden konnte, daß bei intensiver Bodenbearbeitung, insbesondere bei Brachebearbeitung am auffallendsten eine Gesamtstickstoffvermehrung¹⁾ vor sich geht, wie dies von Herrn Prof. Dr. Krüger auch schon in der Februarsitzung des Sonderausschusses für Bodenbakteriologie (Februar 1905) hervorgehoben werden konnte, als er u. a. über die bisherigen Ergebnisse der Hallenser Bracheversuche referierte. Im übrigen konnte zugleich u. a. festgestellt werden, daß bei einer solchen intensiven Bodenbearbeitung auch weiterhin bei günstigen Witterungsverhältnissen eine auffallend lebhaft und starke Umsetzung der unlöslichen N-Verbindungen zu löslichen Verbindungen, — zu Salpeter — eintritt.

Im Anschluß an flüssige und feste Bodenkulturen mit Azotobakter in geeigneter Weise vom Verf. angestellte kleinere Versuche im freien Lande ergaben, daß bei gleichzeitiger Kalk- und Phosphorsäuredüngung die Gesamt-N-Zunahme im Brachboden eine nicht unbedeutend größere wird und daß diese Anreicherung in erster Linie auf eine reichlichere Vermehrung von Azotobakter zurückgeführt werden muß. Auch konnte durch eine gleichzeitige stärkere Salpeterdüngung gezeigt werden, daß eine irgendwie nennenswerte Gesamt-N-Zunahme in solchen Fällen dann nicht zu verzeichnen ist. Durch Versuche im größeren Maßstabe — eventuell unter modifizierten Bedingungen — wird man die hier gewonnenen Ergebnisse zu bestätigen und zu festigen suchen müssen, insbesondere aber wird man zur Prüfung der Reaktion eines derartigen N-reicheren Bodens auch noch geeignete Vegetationsversuche (Gefäß- und Freilandversuche) mit verschiedenen Kulturpflanzen anstellen müssen. Erst dann wird man von einer wirklich praktischen Lösung der biologischen N-Frage (bei günstigen Ernteergebnissen) reden können. Dazu bedarf es aber natürlich noch recht umfangreicher Untersuchungen. Vor allem aber werden auch noch eingehendere N-Bilanzversuche für die verschiedensten Bodenarten angestellt werden müssen, um die Frage zu entscheiden, ob es sich lohnt, unter gewissen Verhältnissen die Schwarzbrache für besseren Boden als Mittel zur Förderung der N-Bindungs- und N-Anreicherungsverfahren im Boden heranzuziehen, oder ob es unter Umständen nicht viel rationeller ist, zur Förderung dieser Vorgänge die auf verschiedenen Böden notwendigen Maßnahmen in den Zwischenzeiten zu treffen, d. h. in der Zeit von der Ernte bis zur Bestellung der nächsten Frucht. Dieser Punkt ist um so mehr zu berücksichtigen, als ja nach mancherlei Erfahrungen die Schwarzbrache, wie genugsam bekannt, im allgemeinen von der nachfolgenden Frucht vielfach nicht so ausgenützt werden kann, daß der Ausfall einer Ernte dadurch gedeckt wird.

Andererseits aber wird man die Nachwirkungen der Brache auf die späteren Jahre noch viel genauer als bisher studieren müssen (wenn möglich auch an der Hand von sorgfältig ausgeführten N-Bilanzversuchen),

es mehr als wahrscheinlich, daß man die sogenannten Azotobakterorganismen — als mehr oder weniger farblose Parallelformen zu gewissen Cyanophyceen — durch geeignete sogenannte Passagekulturen ganz bequem zum Ergrünen bringen kann.

1) Anmerkung: Durch spätere Versuche haben diese Befunde im allgemeinen ihre volle Bestätigung finden können.

um ein wirklich sicheres Urteil zu gewinnen. Zu den Maßnahmen, welche die hier kurz skizzierten Vorgänge bis zu einem gewissen Grade fördern können, hat man auch das öftere Hacken unserer Kulturgewächse (als sogenannte Teilbrache) zu rechnen. Gute Erfolge wird man wahrscheinlich in dieser Hinsicht auch mit einem frühzeitigen Umbrechen der Stoppeln¹⁾ (eventuell schon während der Ernte) bei gleichzeitiger geringer Phosphorsäuredüngung in geeigneter Form und event. gleichzeitiger Kalkdüngung, ferner eventuell auch mit einer Schwefelkohlenstoffbehandlung bezw. mit einer Senfgründung erzielen, indem man nämlich nach neueren Versuchen sowohl mit Senfgrünsubstanz als auch mit Schwefelkohlenstoff gerade die praktisch sehr wichtigen Azotobakterienorganismen zweifellos in ihrer gedeihlichen Entwicklung nicht nur zu fördern, sondern, was besonders vorteilhaft ist, eine reichliche Vegetation derselben bis zu einem gewissen Grade auch zu sichern im Stande ist, soweit man wenigstens aus kleineren Laboratoriumsversuchen diesbezügliche Schlüsse ziehen kann.

Nach alledem kann Verf. wohl mit einiger Berechtigung behaupten, daß die endgültige praktische Lösung der biologischen N-Assimilationsfrage nicht mehr in nebelhafter Ferne schwebt, sondern daß sie vielmehr bei der vielerorts mit einigem Erfolge eingesetzten rastlosen Tätigkeit auf bodenmikrobiologischem Gebiete in absehbarer Zeit bestimmt zu erwarten ist. Auch viele andere Fragen harren noch der befriedigenden Lösung; und auch sie werden zweifellos mit der Zeit eine Klärung finden.

Bezüglich der mikrobiologischen N-Assimilationsfrage ist nun verschiedentlich die Frage ventiliert worden, ob etwa Schimmelpilze oder andere Organismen ebenfalls im Stande sind, den elementaren N der Luft zu verarbeiten oder nicht, eine Frage, welche gegenwärtig weniger praktischen Wert besitzt, als vielmehr nur wissenschaftliches Interesse bietet, da nach allen bisherigen Untersuchungen (auch nach denjenigen von Krüger und des Verf.) ein einwandfreier Beweis für die genannte Fähigkeit dieser Organismen noch nicht hat erbracht werden können. In ähnlicher Weise lagen in dieser Hinsicht die Verhältnisse bezüglich der Algen. Bei all den bisherigen Versuchen (bei genauerer Prüfung) mit negativen Ergebnissen ist es aber keineswegs ausgeschlossen, daß Pilze und Algen freien N zu assimilieren vermögen, wenn auch nur in wenig bedeutenden Mengen, denn man konnte und kann ja mit einiger Berechtigung schließlich immer noch behaupten, daß man nur die näheren Bedingungen noch nicht kennt, unter denen eine Verarbeitung des elementaren N durch diese Organismen erfolgt. Darüber, wie auch über andere wichtige Fragen kann natürlich erst die weitere mikrobiologische Forschung unter möglichst weitgehender Modifikation der Versuche völlige Klarheit bringen.

1) Anmerkung: Mit Hilfe von sogen. flüssigen Azotobakterbodenkulturen (bei Verwendung geeigneter Nährmedien) kann man wenigstens indirekt den günstigen Einfluß der zeitigen Bodenbearbeitung auf das N-Sammelungsvermögen nachweisen: es zeigen nämlich die Kulturen mit Impferde der nicht gestürzten Stoppel eine weniger üppige Azotobaktervegetation und auch geringere N-Zunahme als die entsprechenden Kulturen mit Impferde derselben, aber geschälten Stoppel. Der direkte Beweis kann natürlich auch hier nur durch genaue N-Bilanzversuche der Freilanderden erbracht werden.

1) Die Assimilation des freien elementaren Stickstoffs durch Algen?

Wenn man die Literatur über die Assimilation des freien N der Luft durch niedere pflanzliche Organismen überblickt, so findet man verschiedentlich die Vermutung, ja selbst die Behauptung ausgesprochen, daß auch niedere Algen im stande sind, den freien elementaren N zu assimilieren und im Boden zunächst als Eiweißstickstoff (Organismen-substanz) festzulegen, mag dies nun schließlich durch die Algen allein oder im Verein mit anderen niederen Organismen geschehen.

a) Die Assimilation des elementaren N durch grüne Algen?

„Obgleich manche der in dieser Richtung eingeleiteten Versuche, die sich teils durch ihre Ausführung in gewisser Beziehung vorteilhaft auszeichnen, scheinbar die Frage endgültig bejahen (wie Krüger bei Besprechung seiner eigenen mit Schneidewind ausgeführten umfangreicheren Versuche schreibt), so fehlen doch bis jetzt Untersuchungen, die in diesem Sinne positiv beweisender Art wären. Daß solches, selbst wenn diesen Organismen jene Fähigkeit zukäme, bis vor kurzem ganz unmöglich war, findet in der Tatsache seine Begründung, daß man erst seit wenigen 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 endgültig zu entscheiden“.

In einem kurzen geschichtlichen Ueberblicke „Ueber die Assimilation des freien N der Atmosphäre durch niedere Algen“ betont Krüger zunächst, wie nach einer Reihe von Untersuchungen (Berthelot, A. B. Frank, Schloesing und Laurent, Richter u. a.) die Annahme, daß niedere Organismen des Bodens den freien N der Luft festzulegen im stande sind, sehr wohl als gerechtfertigt erscheint, nachdem schon von Winogradski und ihm selbst bestimmte chlorophyllfreie Formen aufgefunden und teils näher gekennzeichnet, bezw. in Reinkultur daraufhin untersucht werden konnten; noch keinem Versuchsansteller war es jedoch bisher gelungen, die erwähnte Fähigkeit auch bei niederen Algen zweifellos darzutun.

Die wichtigsten Untersuchungen, nach denen Algen dazu befähigt sind, den freien N in elementarer Form aufzunehmen (von A. B. Frank, Schloesing, Laurent, Richter) werden von Krüger etwas ausführlicher besprochen, indem er besonders auf mancherlei Widersprüche hinweist, welche sich bei jenen Untersuchungen vorfinden und welche ohne weiteres die Frage nach der Ursache dieser Widersprüche aufwerfen.

„In dem einen Falle wird N-Fixierung bei Algenvegetationen erwiesen, in einem anderen dagegen ist dieselbe trotz der letzteren nicht nachweisbar; der eine Versuchsansteller gibt an, daß sich durch die ganze Lage des Versuchsbodens eine N-Bindung vollzieht (Berthelot), andere wollen dieselbe nur auf die obere Bodenschicht beschränkt wissen (Schloesing und Laurent) u. dergl. mehr. Der Grund der Widersprüche liegt auf der Hand. Der Boden enthält zahlreiche Mikroorganismen verschiedener Art, die in ihren Lebensbedingungen und in ihrer Lebenstätigkeit abweichen; daher wird man bei verschiedenen Versuchsbedingungen bei Versuchen über N-Bindung zu ganz verschiedenen Ergebnissen kommen müssen. Prozesse entgegengesetzter Art werden

durch die Tätigkeit niederer Organismen im Boden ausgelöst; will man daher den einen Vorgang durch Versuche aufklären, so muß man zunächst den entgegengesetzten ausschließen. Vor allem wird man aber bei der obigen Frage die Organismen der Salpeterbildung und der Salpeterzersetzung entfernen müssen, denn bei Gegenwart von Salpeter oder Verbindungen, die nitrifiziert werden können, muß die Gegenwart obiger Organismen je nach der Beschaffenheit des Versuchsmaterials auf die N-Bilanz von wesentlichem Einflusse sein. Man wird daher auch bei dieser Frage nicht umhin können, wie bei der Erforschung der Lebenstätigkeit niederer Organismen überhaupt, mit bestimmten Organismen, also mit Reinkulturen zu arbeiten, und dies ist in der Algenfrage von obigen Versuchsanstellern vollständig vernachlässigt worden. Ohne Ausnahme treten jene Untersucher, die nicht mit bestimmten Organismen und Reinkulturen derselben arbeiteten, für die Bindung des freien N durch Algen ein, und zwar nur auf Grund dessen, daß sie diese Organismen sich in ihrem Versuchsmaterialie entwickeln sahen“.

Vom obigen Gesichtspunkte aus suchen nun Krüger und Schneidewind die Frage der N-Fixierung im Boden durch niedere Algen zu lösen und geben die bisherigen in dieser Richtung gemachten verschiedenartigen Versuche bekannt.

Es wird zunächst näheres über Algenreinkulturen, besonders über die nicht unschwer zu erzielende Isolierung von Algen der Gattungen *Chlorella*, *Chlorothecium*, *Stichococcus* u. a. und zwar mit Hilfe von Gelatinenährböden berichtet.

Auch andere niedere Organismen konnten von Krüger mit Hilfe der Gelatinegußkulturen erhalten werden.

Weiterhin werden die N-Ernährungsversuche mit niederen Algen in Reinkultur ausführlicher besprochen, ebenso die angewandten verschiedenartigen flüssigen und festen Nährsubstrate und schließlich die bisherigen Ergebnisse mitgeteilt, welche sowohl in sogenannten N-freien Nährsubstraten als auch in mehr oder weniger N-reichen Nährmedien erhalten wurden.

Die Art und die Zusammensetzung der Nährböden war nach Krüger und Schneidewind die folgende:

I. Traubenzucker-Salzlösung: 1 Proz. Dextrose + Salze ($K_3PO_4 = 0,2$ Proz.; $MgSO_4 = 0,04$ Proz.; $CaCl_2 = 0,02$ Proz. + 1 Tropfen einer 2-proz. $FeCl_3$ -Lösung pro 100 ccm) angewandte Menge pro Versuch = 100 ccm.

II. Geglühter, mit Salzsäure ausgekochter und nochmals geglühter Sand wurde mit einer wie unter I zusammengesetzten Lösung durchtränkt (150 g Sand + 45 ccm Nährlösung pro Versuch).

III. Traubenzucker-Salzlösung: Wie unter I, jedoch mit einem Zusatz von 0,25 Proz. $(NH_4)_2SO_4$ + 0,25 Proz. $NaNO_3$: N-Gehalt = 0,0930 g.

IV. Sand: Wie bei II, jedoch mit 40 ccm Nährlösung III und 5 ccm Wasser durchtränkt, also mit 0,1 g $(NH_4)_2SO_4$ und 0,1 g $NaNO_3$. N-Gehalt = 0,0430 g.

V. Nährlösung: $\frac{1}{2}$ Proz. Fleischextrakt, $\frac{1}{2}$ Proz. Pepton, $\frac{1}{2}$ Proz. Dextrose; Angewandte Menge 100 ccm N-Gehalt.

VI. Sand: Wie bei II, jedoch mit Lösung V getränkt 0,1072 g N-Gehalt = 0,0515 g.

VII. Bierwürze: Zur Anwendung gelangten 100 ccm verdünnte Bierwürze pro Versuch. N-Gehalt 0,1135 g bzw. 0,0543 g.

VIII. Sand: Wie bei II, jedoch mit verdünnter Bierwürze wie unter VII getränkt; 42 ccm pro Gefäß; N-Gehalt 0,04935 g bzw. 0,02415 g.

IX. Humosen milder Lößlehmböden (Lauchstädt) mit einem Zusatz von 35 Proz. Sand (s. u. II) und getränkt mit destilliertem, sterilisiertem Wasser. N-Gehalt: 0,1413 g N.

Daß die vorbenannten Nährböden nicht alle bei jeder untersuchten Algengruppe zur Verwendung gelangten, hatte vorwiegend seinen Grund darin, daß sich dieselben nicht in gleichem Maße für alle Fälle eigneten.

In Bezug auf ihre etwaige N-Fixierung sind nun von Krüger und Schneidewind eine ganze Anzahl Arten der

Algengattung *Stichococcus*,

„ *Chlorella* (Gruppe *Chlorella vulgaris* Beijerinck),

„ *Chlorella* (Gruppe *Chlorella protothecoïdes* Krüger,

„ *Chlorothecium*

geprüft worden und mögen hier die analytischen Daten tabellarisch geordnet wiedergegeben werden, welche sich auf die Gattung *Stichococcus* beziehen. (Siehe Tabelle p. 649, 650.)

Aus der beigegebenen Tabelle ist ohne weiteres ersichtlich (cf. Tabelle I), daß die einer Prüfung unterzogenen Vertreter der Algengattung *Stichococcus* nicht im stande sind, den elementaren N zu verarbeiten (wenigstens nicht unter den gerade eingehaltenen Entwicklungsbedingungen), und daß demnach durch dieselben im Boden unter Berücksichtigung der Fehlerquellen ein gewisses Mehr an Gesamt-N nicht zu erwarten ist.

Ganz ähnliche Resultate wie die vorstehenden wurden mit entsprechenden Kulturen der verschiedenen Species der anderen obengenannten Algengattungen erhalten, so daß also unter den innegehaltenen Versuchsbedingungen in keinem einzigen Falle eine Verarbeitung des freien N der Luft durch chlorophyllgrüne Algen festgestellt werden konnte.

Wohl aber tritt in sogenannten N-freien bzw. N-armen Kulturflüssigkeiten reichliche Entwicklung grüner Algen und auch Bindung elementaren N ein, wenn mit den Algen als Reinkultur gleichzeitig andere Bodenorganismen in Form einer Bodenaufschwemmung oder besonders in Form einer Azotobakterkultur eingimpft werden.

Dies konnte in geeigneten Nährmedien u. a. besonders von Krüger, Kossowitsch, Bouilhac, wie auch vom Verf. selbst verschiedentlich nachgewiesen werden. Die N-Assimilation erfolgt aber auch dann nach unseren bisherigen Kenntnissen keineswegs durch die grünen Algen selbst, sondern einzig und allein durch gleichzeitig eingimpfte Bodenorganismen, insbesondere durch Azotobakter.

b) Die Assimilation des elementaren N durch blaugrüne Algen.

Wenn alsdann bezüglich der sogenannten blaugrünen Algen (Cyanophyceen) bisher ein vollgültiger Beweis dafür noch nicht erbracht werden konnte, daß eine Verarbeitung des elementaren N der Luft durch diese Organismen stattfindet oder wenigstens unter gewissen Bedingungen möglich ist, so sprechen doch gar manche von verschiedenen Seiten bereits gemachte Beobachtungen ganz entschieden für eine solche Fähigkeit der genannten Mikroben, und zwar wird besonders von Beijerinck auf Grund seiner Erfahrungen verschiedenen blaugrünen Algen die Fähigkeit, Stickstoff zu sammeln, zugeschrieben; analytische Daten sind allerdings auch von Beijerinck als einwandfreier Beweis bislang noch nicht erbracht worden.

Tabelle I.
Stickstoffbilanz bei Algenreinkulturen (Gattung *Stichococcus*)
nach Krüger und Schneidewind; zusammengestellt von B. Heinze.

| Art und Zusammensetzung des Nährsubstrates | Nährsubstrat ungeimpft steril geblieben. Kulturflüssigkeiten | Stichococcus spez. (Kohl) | Stichoc. chloranthus n. spez. | Stichoc. spez. (Grabenwasser) | Stichoc. spez. (Mauer) | Stichoc. spez. Beijerinck | Stichoc. spez. (major) | Stichoc. spez. (Meerwasser) | Sonstige Bemerkungen | |
|--|--|---|-------------------------------|-------------------------------|------------------------|---------------------------|------------------------|-----------------------------|--|----|
| | | N-Gehalt der einzelnen Kulturen nach Ablauf des Versuches (pro 100 ccm bzw. 150 g Sand) in: | | | | | | | | |
| | | mg | mg | mg | mg | mg | mg | mg | | mg |
| Nährsubstrat I ohne besondere N-Gabe | 0,5 | 0,3 | 0,2 | 0,3 | 0,5 | 0,3 | — | — | Nirgends eine augenscheinliche Entwicklung festzustellen; nur bei <i>St. chloranthus</i> ein schwach gelbgrüner Bodensatz vorhanden. | |
| | 0,5 | 0,3 | 0,3 | 0,5 | 0,5 | 0,4 | — | — | | |
| | 0,5 | 0,3 | 0,25 | 0,4 | 0,5 | 0,35 | im Mittel | im Mittel | | |
| Nährsubstrat II: Sand + Nährlösung ohne besondere N-Gabe | 0,65 | 0,65 | 0,65 | 0,65 | 0,65 | 0,65 | — | — | Ueberall an zahlreichen Stellen bildeten sich blaßgelbe, nach u. nach erbleichende Vegetationen | |
| | 0,65 | 0,65 | 0,65 | 0,65 | 0,65 | 0,65 | — | — | | |
| | 0,65 | 0,65 | 0,65 | 0,65 | 0,65 | 0,65 | im Mittel | im Mittel | | |
| Nährsubstrat III: Nährlösung mit N-Gabe (in anorg. Form) | 93,2 | 93,9 | 93,2 | 94,4 | 93,9 | 93,9 | — | — | Durchweg üppige Entwicklung, teils in Form einer Haut an der Oberfläche der Flüssigkeit. Bei Abschluß des Versuches ein ziemlich beträchtlicher, gelbgrüner Bodensatz. | |
| | 95,2 | 93,9 | 95,2 | 95,0 | 93,9 | 93,9 | — | — | | |
| | 94,2 | 93,9 | 94,2 | 94,7 | 93,9 | 93,9 | im Mittel | im Mittel | | |
| Nährsubstrat IV: Sand + Nährlösung mit N-Gabe (in organ. Form) | 42,0 | 42,0 | 42,0 | 42,0 | 42,0 | 42,0 | — | — | Ueberall kräftige Entwicklung in der Farbe verschieden grün-dunkelgrün; hellgrün, moosartig; schwarzgrün, matt, dunkelgrün; hellgrün. | |
| | 43,0 | 42,0 | 42,0 | 42,0 | 42,0 | 42,0 | — | — | | |
| | 42,5 | 42,0 | 42,0 | 42,0 | 42,0 | 42,0 | im Mittel | im Mittel | | |
| Nährsubstrat V: Nährlösung mit N-Gabe (in org. Form) | 107,2 | 106,0 | 107,4 | 106,7 | 107,2 | 106,9 | 106,0 | 107,2 | Die Entwicklung war allgemein sehr lebhaft und führte zu erheblich grünem Bodensatz bei Abschluß des Versuches; die Oberfläche vielfach mit Algen-decke überzogen. 1) mit 2) ohne Algen-decke 3) ohne 4) mit „ 5) mit 6) „ „ 7) ohne „ „ | |
| | 107,2 | 106,7 | 107,6 | 107,9 | 107,4 | 107,9 | 106,2 | 107,6 | | |
| | 107,2 | 106,4 | 107,5 | 107,3 | 107,4 | 107,3 | 106,1 | 107,4 | | |
| | | im Mittel | | | | | | | | |
| Nährsubstrat VI: Sand + Nährlösung mit N-Gabe (in org. Form) | 51,0 | 51,0 | 51,0 | 51,0 | 51,0 | 51,0 | 51,0 | 51,0 | Entwicklungsgemein sehr ausgiebig, bei I in Form hellgrüner moosartiger Vegetationen, bei allen anderen Kulturen Vegetation dunkelgrüner und den Sand an der Oberfläche ohne Erhebungen überziehend. | |
| | 51,9 | 51,0 | 51,9 | 51,5 | 51,0 | 51,0 | 51,0 | 51,0 | | |
| | 51,5 | 51,0 | 51,5 | 51,3 | 51,0 | 51,0 | 51,3 | 51,0 | | |
| | | im Mittel | | | | | | | | |

| Art und Zusammensetzung des Nährsubstrates | Nährsubstrat ungeimpft; steril geblieben. Kulturflüssigkeiten | Stichococcus spez. (Kohl) | Stichoc. chloranthus n. spez. | Stichoc. spez. (Grabenwasser) | Stichoc. spez. (Mauer) | Stichoc. spez. (Beijerinck) | Stichoc. spez. (major) | Stichoc. spez. (Meerwasser) | Sonstige Bemerkungen | | |
|--|---|--|---|-------------------------------|---|-----------------------------|------------------------|---|---|--|--|
| | | N-Gehalt der einzelnen Kulturen nach Ablauf des Versuches (pro 100 ccm bzw. 150 g Sand) in: | | | | | | | | | |
| | | mg | mg | mg | mg | mg | mg | mg | | | |
| Nährsubstrat IX: Boden + 35 Proz. Sand ohne besond. N-Gabe | 141,3 141,3 141,3 | — — 141,3 | 141,8 142,6 142,2 | — — 142,2 | — — — | — — 141,6 | — — im Mittel | — — im Mittel | Auf der Oberfläche des Bodens sowie an den Gefäßwandungen zwischen Boden u. Glas machte sich Entwicklung von Algen durch die Färbung bemerkbar. | | |
| Bemerkungen: | | Ganz ähnliche Ergebnisse wie die hier tabellarisch wiedergegebenen Zahlen für Stichococcuskulturen wurden bei sämtlichen anderen geprüften Algenkulturen erhalten. | | | | | | | | | |
| Nährsubstrate: | | I 1-proz. Traubenzuckerlösung 0,2 Proz. K ₃ PO ₄ 0,04 Proz. MgSO ₄ 0,02 Proz. CaCl ₂ ohne N (0,25 Proz. (NH ₄) ₂ SO ₄) (0,25 Proz. NaNO ₃) Spur. Eisenchlorid | III Präparierter Sand mit Nährlösung I bzw. III durchtränkt. | II IV | V 1/2 Proz. Fleischextr. 1/2 Proz. Pepton, ohne Sand mit Sand N-Gehalt: 0,107 % 0,052 % | | VI | IX. Milder humoser Lößlehm- boden (Lauchstädt) mit einem Zusatz von 35 Proz. Sand (s. u. II) und durchtränkt mit destilliertem, sterilisiertem Wasser. | | | |

Wie genugsam bekannt ist, erhielt Beijerinck durch sogenannte „Anhäufungsversuche“, die er im Lichte stehen hatte, mit Chromophyll begabte Oligonitrophile, welche im Lichte C aus der CO₂ der Luft beziehen können, während im Dunkeln bei Zusatz von C-Nahrung farblose Oligonitrophile auftraten. So wuchsen nach einer Impfung mit Erde Cyanophyceen, wenn er beispielsweise gewöhnliches Leitungswasser mit 0,02 Proz. K₂HPO₄ im Lichte hielt, indem zugleich dafür gesorgt wurde, daß die Luft in den betreffenden Kulturen dann und wann erneuert wurde; die neu zugeführte Luft wurde zuvor in geeigneter Weise immer erst von Stickstoffverbindungen befreit. Anfangs war immer erst eine treibende Haut von Calciumphosphat zu bemerken, die durchgeschüttelt wird.

Infolge des geringen Gehaltes an sogenannten organischen Stoffen im Leitungswasser entsteht keine von farblosen Mikroben herrührende Trübung.

Hingegen bildete sich nach Beijerinck im Winter nach ca. 8, im Sommer nach ca. 4—5 Wochen eine charakteristische Flora, welche aus mehreren Arten von Cyanophyceen besteht. Diese Flora wächst, sobald sie einmal begonnen hat, sich zu entwickeln, auffallend schnell heran und färbt die Flüssigkeit spangrün oder blaugrün.

Fürs erste entwickeln sich nun in solchen Kulturen die Cyanophyceen als sogenannte Einzelkolonien, welche ziemlich fest an der Glaswand haften, und erst späterhin entstehen auch treibende Häute als

eine wahre „Wasserblüte“, welche der Hauptsache nach aus *Anabaena* besteht, und zwar nach Beijerinck aus *Anabaena catenula*.

Die Kolonien dieser Art, welche am Glase festhaften, breiten sich schließlich stark seitwärts aus und erzeugen dünne Beläge.

Auch fand sich nach Beijerinck fernerhin eine dunkelblaugrüne Art in großer Anzahl vor, deren Kolonien ebenfalls mit dem Glase verklebt waren und später frei herumtrieben.

Diese ist wahrscheinlich verwandt oder sogar identisch mit *Nostoc paludosum*.

Relativ selten wurde bald hier, bald dort ein blaugrüner Schleimklumpen beobachtet, welcher sich als *Nostoc sphaericum* entpuppte.

Diese Arten gehören bekanntlich den unbeweglichen *Cyanophyceen* an.

Wenn die zu Kulturzwecken verwandten Nährlösungen geringe Menge gebundenen N enthielten, so traten zuerst Diatomeen und grüne Algen auf und erst viel später, nachdem der N des Nährbodens verbraucht ist, kommen die *Cyanophyceen* zum Vorschein. Auch hier kam nach Beijerinck immer *Anabaena* zur Entwicklung.

Wenn unter solchen Kulturbedingungen andere Arten nicht erhalten wurden, so mag dies wohl mehr auf dem zufälligen Zustand der Impferde beruhen.

Ein völlig anderes Bild wurde jedoch bei obigen erstgenannten Versuchen erhalten, wenn an Stelle von Leitungswasser aus dem großen Kanal von Delft Wasser verwandt wurde, welches nur wenig von dem Wasser der Maas verschieden ist und deshalb dem gewöhnlichen Flußwasser ziemlich nahe steht, immerhin aber etwas mehr mit organischen Stoffen verunreinigt ist.

Zunächst entsteht darin eine reichliche Vegetation von Diatomeen, welche sich als Belag auf der Glaswand und als Schwebeflora entwickelt. In dieser sind *Chlorophyceen* aus den Gattungen *Raphidium*, *Chlorella*, *Chlorococcum* und *Scenedesmus* eingestreut, ohne daß jedoch der Diatomeencharakter der Kultur verändert wird.

Viel später — nach etwa 8 bis 10 Wochen — tritt in den Kulturen eine Farbenänderung von Braun in Blaugrün ein, weil alsdann die *Cyanophyceen* zur Vermehrung gelangen und obendrein die Vermehrung so lange fortdauern kann, als noch genügende Mengen Kaliumphosphat (K_2HPO_4) und andere mineralische Nährstoffe vorhanden sind.

Beijerinck erklärt sich dieses Verhalten durch das Vorhandensein größerer Mengen organischer Stoffe in solchen Kulturen und führt auch noch weitere Versuche an, welche dies direkt zu beweisen scheinen.

Obschon sich also nach Beijerinck die *Cyanophyceenflora* nur dann entwickelt, wenn der Gehalt an organischen Stoffen in den betreffenden Kulturflüssigkeiten sehr gering ist, so hält er doch andererseits gerade diesen sehr geringen Gehalt als für das Gelingen des Versuches von wesentlicher Bedeutung, zumal er bei möglichst vollständiger Abwesenheit organischer Körper ganz andere Erscheinungen auftreten sah, über die er jedoch noch keine entscheidenden Ergebnisse mitzuteilen in der Lage ist.

Wie Beijerinck selbst schreibt, sind die hier kurz wiedergegebenen *Cyanophyceenversuche* im Prinzip wenigstens nicht ganz neu mehr, indem schon im Jahre 1892 von Laurent und Schloesing diesbezügliche Versuche ausgeführt wurden, aber von diesen Forschern

nicht mit Kulturflüssigkeiten, sondern mit einem gewöhnlichen Sandboden und obendrein unter sehr viel komplizierten Bedingungen.

Wichtig aber ist und verdient besonders hervorgehoben zu werden, daß auch die genannten Forscher, wenn N-Verbindungen gänzlich ausgeschlossen waren und nur CO₂ als C-Quelle zur Verfügung stand, ebenfalls im Lichte eine Cyanophyceenflora erhielten. Im übrigen wurden von den genannten Autoren in ihren Kulturen vorwiegend *Nostoc punctiforme*, *Nostoc minutum* und *Cylindrospermum major* angetroffen. Sie kommen dabei zu dem Schlusse, daß diese Cyanophyceen auf Grund spezieller Untersuchungen den elementaren N zwar nur in geringen, aber in gut meßbaren Mengen zu assimilieren vermögen.

Diese Versuche sind zwar leicht erklärlicherweise nicht völlig beweiskräftig und überzeugend, weil in den betreffenden Kulturen zweifellos auch mancherlei andere Organismen, wie z. B. Bakterien, vorkamen, aber sie machen doch schon die genannte Fähigkeit der N-Bindung sehr wahrscheinlich.

Durch die hier vorliegende sogenannte Oligonitrophilie der Cyanophyceen wird in gewisser Hinsicht auch schon einiges Licht auf die beiden folgenden auch von Beijerinck erwähnten Beobachtungen geworfen.

Graebner sah, wie frische Sandböden, welche sich in Heide Moore verwandelten, sich zunächst mit einer Cyanophyceenvegetation bedeckten, welche ungefähr einige Millimeter tief unter die Erdoberfläche dringt.

Und weiterhin konnte Treub, welcher 3 Jahre nach dem vulkanischen Ausbruche die verwüstete Insel Krakatau besuchte, beobachten, wie sich die vulkanische Asche mit einer Schicht Cyanophyceen überzogen hatte, von denen er besonders *Lingbya verbeckiana* und *L. minutissima* erwähnt. Wenn man schließlich auch in diesem Falle die Theorie der sogenannten Generatio spontanea zurückweisen muß, so kann man sich deshalb doch sehr wohl denken, daß die aus dem Weltenraume zugeführten Cyanophyceen die Urbewohner der Erde gewesen sind, weil uns zunächst keine Organismen bekannt sind, welche ihre organische Leibessubstanz möglicherweise aus CO₂ und atmosphärischem N erzeugen können.

Selbstverständlich brauchen diese beiden Beobachtungen zu ihrer Erklärung aber gar nicht mehr die Annahme, daß Cyanophyceen event. elementaren N assimilieren; nachdem wir Clostridien und besonders Azotobakter als spezielle N-sammelnde Organismen kennen, ist es sehr wohl möglich, daß in jenen Böden derartige Organismen neben blaugrünen Algen unsichtbar ihr Wesen getrieben haben. (Vergl. auch A. Koch: „Die Assimilation des freien N der Luft etc.“ in Lafars Handbuch der technischen Mykologie 1904.)

Ähnliche Beobachtungen wie diejenigen von Beijerinck u. A. über die mögliche N-Assimilation seitens der blaugrünen Algen dürften wohl noch verschiedentlich gemacht worden sein; leider sind darüber noch von keiner Seite genaue Beleganalysen bekannt gegeben worden, was unbedingt notwendig ist, da ja eine bloße Beobachtung, daß Organismen in N-freien bzw. N-armen Flüssigkeiten wachsen, keineswegs genügt, um die Behauptung zu begründen, daß alle diese Formen freien N assimilieren, denn es gibt bekanntlich viele Organismen, welche bezüglich ihres N-Bedarfs quantitativ sehr genügsam sind. Nur wenn die

Analyse einer Reinkultur N-Zunahme zeigt, kann von Bindung elementaren N durch den betreffenden Organismus die Rede sein.

Schließlich muß noch ein Hinweis von Bouilhac hervorgehoben werden, nach welchem in Kulturen mit *Nostoc punctiforme* unter Umständen eine N-Zunahme festgestellt werden kann. Bouilhac fand zunächst im Anschluß an die Versuche und Erfahrungen von Kossowitsch u. A., daß in *Cystococcus*-Kulturen N-Assimilation eintritt, wenn Bodenbakterien zugesetzt wurden. Insbesondere stellte er sich die Frage, wie die Bakterien die Algenentwicklung beeinflussen. Aus einer spontanen Algenvegetation in einer Nährlösung isolierte er *Schizothrix lardacea*, *Ulothrix flaccida* und *Nostoc punctiforme*.

Während nun in einer Nährlösung, welche pro Liter :

0,2 g neutrales phosphorsaures Kalium,
0,2 „ schwefelsaure Magnesia,
0,2 „ schwefelsaures Kalium,
0,1 „ kohlen sauren Kalk und
Spuren Eisenchlorid

enthielt, auch auf Zusatz von etwas Bodenaufschwemmung die beiden ersteren grünen Algen nicht wuchsen, entwickelte sich *Nostoc punctiforme* in derselben Nährlösung bei Zusatz von einem Tropfen Bodenaufschwemmung ganz gut, aber nicht ohne diesen Zusatz.

Innerhalb 6 Monaten konnten von Bouilhac bei 3 derartigen Kulturen folgende Ernten und N-Mengen als assimiliertes N festgestellt werden :

| | Ernte | Assimiliertes N | Bemerkungen |
|------|--------|-----------------|------------------------------------|
| I: | 705 mg | 23,4 mg | } <i>Nostoc</i> und Bakterien |
| II: | 564 „ | 20,0 „ | |
| III: | 353 „ | 11,1 „ | } <i>Hypheothrix</i> und Bakterien |

Dieselben Resultate konnte Bouilhac auch erhalten, als er zu den betreffenden Kulturen $\frac{1}{10000}$ arsenige Säure zusetzte.

Aus diesen Versuchen wird alsdann gefolgert, daß die beiden oben erwähnten grünen Algen selbst bei Gegenwart von Bodenbakterien in sogenannten N-freien Lösungen nicht wachsen können, daß hingegen *Nostoc punctiforme* dazu im stande ist und daß der N dieser niedrigen Pflanze demjenigen der Leguminosen vergleichbar ist.

Was die hier genannten grünen Algen anbelangt, so dürfte das Ausbleiben einer Entwicklung unter den vorliegenden Bedingungen sicherlich wohl mehr auf Zufälligkeiten beruhen.

Im Anschluß an die vorstehenden Versuche von Bouilhac mag auch nicht unerwähnt bleiben, daß man unter solchen Bedingungen in rein anorganischer, N-freier Nährlösung die Eigenassimilation (der CO_2) von *Nostoc* auch durch Glykosezusatz unter Ausschluß intensiven Lichtes ersetzen kann.

Als geeignete Ersatzmittel für Glycose können auch andere Kohlenhydrate, wie Rohrzucker, Maltose, Stärke in 0,3 und 0,6-proz. Lösung verwandt werden. Als nicht geeignet erwiesen sich nach Bouilhac Dioxyceton, Arabinose, Xylose, Lävulose, Galaktose, Sorbose, Trehalose, Melicitose, Raffinose, Mannit, Glycerin, Dulcit, Perseit, Gummi arabicum und Dextrin. Die Entwicklung von *Nostoc* wird auch von vielen dieser Stoffe im Lichte gehemmt; wenn Milchzucker zugesetzt wurde, so war die Entwicklung von *Nostoc* im Dunkeln äußerst schwach.

(Schluß folgt.)

Die beweglichen und unbeweglichen aëroben Gärungs- erreger in der Milch.

Gruppe des *Bacillus coli* und des *Bacterium aërogenes*.

[Arbeit aus dem bakteriologischen Laboratorium der Versuchsstation für
Molkereiwesen zu Kiel.]

Von Dr. **Theo. Gruber**, Hamburg.

Die Bakterienflora einer jeden Milch beinahe weist auf aëroben Gelatine- und Agarplatten Vertreter zweier Bakteriengruppen auf, die in steriler Milch deutliche Gasbildung, Koagulation des Kaseins und saure Reaktion hervorrufen. Das nun so ungemein häufige Vorkommen dieser zwei Arten, des *Bacillus coli* und des *Bacterium aërogenes*, veranlaßte in Gemeinschaft des Wirrwarres, der in der Literatur dieser Gruppen herrscht, die Frage aufzuwerfen: Sind diese beiden Gruppen streng voneinander zu trennen, d. h. sind alle diese Gasbildner in diese zwei Arten unterzubringen, oder sind Unterarten vorhanden, die ineinander übergehen? Ueber diese Punkte der Identifizierung und der Klassifikation ist von den verschiedensten Forschern mit den verschiedensten Resultaten gearbeitet worden; auf die gesamte Literatur hier etwas näher einzugehen, würde entschieden zu weit führen und hätte auch keinen reellen Wert, da eine Klassifikation der Arten der beiden Species nach dem vorhandenen Material resultatlos verlaufen müßte. Ich greife nur auf die Differentialdiagnose von Flüggé¹⁾ bezüglich dieser Gasbildner zurück, welche in seinem Buche in zwei wohl zu unterscheidende Gruppen nach seinen Definitionen eingereiht sind. Die Coli-Gruppe erhielt folgende diagnostische Merkmale: Beweglichkeit, peritriche Anordnung der Cilien, Koagulation der Milch, kräftiges Gärvermögen und Indolreaktion; auf die Beweglichkeit, resp. auf deren Grad, legt Flüggé weniger Gewicht.

Keine Bewegung, mangelnde Indolbildung, Koagulation der Milch waren differentialdiagnostisch für *Bacterium aërogenes* maßgebend.

Eine aus der neuesten Zeit stammende Arbeit von Harrison²⁾ über die Gas produzierenden Bakterienarten der Milch hält auch noch im gewissen Sinne die Gruppierung von Flüggé aufrecht, aber mit dem Bemerkten, daß diese beiden Bakterienarten als extreme Grenzen anzusehen seien, zwischen denen sich viele Unterarten eng aneinander reihen. Der Coli-Gruppe gibt er folgende Merkmale: Beweglich. Gelatinekolonien: flach, dünn, weinblattartig. Koagulation der Milch, Indolbildung, Vergärung von Laktose, Glukose und Saccharose. Die Kolonien des *Aërogenes*-Typus sind als rund, erhaben und glänzend bezeichnet, die Einzelindividuen sind unbeweglich, die Milch wird koaguliert, Indolbildung ist nicht vorhanden, wohl aber Vergärung von Laktose und Glukose, eventuell auch Saccharose. Gesamtcharakteristika dieser beiden Gruppen bilden: Saure Reaktion der Milch und gewöhnlich Koagulation derselben, Reduktion von Nitrat zu Nitrit, Vergärung oben erwähnter Zuckerarten, keine Peptonisierung der Gelatine, bei 37° C besseres Wachstum wie bei Zimmertemperatur, Färbung nach

1) Die Mikroorganismen. Flüggé. Bd. II. p. 360 u. 340.

2) Bakteriolog. Centralblatt. II. Abtlg. Bd. XIV. 1905. p. 478.

Gram negativ, Stäbchen kurz bis mittellang, einzeln oder paarweise, selten Kettenbildung, granuliert Struktur.

Mir stunden 28 Stämme gasbildender, aerober Bakterien aus der Sammlung der Versuchsstation zur Verfügung und ich habe versucht, dieselben kulturell, morphologisch und physiologisch zu vergleichen und zu gruppieren.

Ich komme nun auf die Beweglichkeit zurück. Nach der beigefügten Tabelle I lassen sich zwei ganz scharf zu trennende Gruppen unterscheiden: Bewegliche Gasbildner No. 120—490 inklusive und unbewegliche No. 23—506. Sollte ein Bakterium der zu prüfenden Stämme auf einem Nährboden, z. B. in den Kolonien der Gelatineplatten, keine oder fragliche Bewegung aufweisen, so ist noch nicht mit positiver Bestimmtheit seine Unbeweglichkeit ausgesprochen, vielmehr müssen andere Nährmedien, eventuell auch verschiedene Temperaturen in Betracht gezogen werden, wie z. B. No. 489 zeigt. Die Bewegungsorgane selbst sind bei den 10 Arten No. 129—490 einheitlich inseriert und zwar monopolar in der Zahl 1—2, während hingegen Migula¹⁾, Fischer²⁾ den *Bacillus coli communis* als peritrich bezeichnen; die Geißelfärbung selbst wurde nach der bekannten etwas von mir modifizierten Anweisung von Zettnow stets leicht bewerkstelligt. Jedenfalls wäre es von großer Bedeutung, weiter zu forschen, ob sämtlichen Gasbildnern mit Eigenbewegung, die der Milch und ihren Produkten entstammen, diese polare Begeißelung eigen ist, zumal dann solche mit typhusähnlichem Wachstum als Coli-Bakterien morphologisch leicht zu bestimmen wären. Die Gramsche Färbung habe ich als völlig unzureichend weggelassen, da man bei ein und demselben Bakterium, je nach dem Alter der Kultur, bald ein positives, bald ein negatives Resultat erzielen kann.

Der Coli-Typus, wie er bei No. 485 in der kurzen Beschreibung der 28 Arten näher detailliert ist, kommt nicht allein den Coli-Arten, sondern auch der Aërogenes-Gruppe zu, wie aus Tabelle I zu ersehen ist, und umgekehrt ist der Aërogenes-Typus der No. 129 kein Charakterikum für die unbeweglichen Gasbildner, da er sich auch bei den beweglichen einfindet.

Die Indolbildung, die früher nur der Gruppe der Coli-Bakterien zugeschrieben wurde, ist zum größten Teil auch bei den unbeweglichen gaserzeugenden Bakterien, wie Tabelle I ferner dartut, anzutreffen, nur zwei Arten der 18 Species, No. 476 und 486, zeigen die Indolreaktion nicht, alle 10 Stämme der Coli-Gruppe hingegen ergeben in dieser Beziehung ein positives Resultat. Zum Nachweis des Indols wurde eine Lösung von Pepton und Chlornatrium 10,0 ad 1000,0 ccm destillierten Wassers (Nährboden I) in kleinen Erlenmeyer-Kölbchen sterilisiert; vor dem Impfen wurden einige Kölbchen geprüft, ob keine Rosafärbung beim Erwärmen mit dem halben Volumen 10-proz. Schwefelsäure eintritt, nach negativem Resultate wurden die sterilen Kölbchen geimpft und zur Kontrolle einige ungeimpfte im Brutschranke bei 34° C eine Woche bebrütet. Die Kontrollkölbchen ergaben dasselbe Ergebnis wie vorher erwähnt, die geimpften waren alle intensiv getrübt mit mehr oder minder starkem Sediment; die Resultate sind in der Tabelle I, Kolonne VII, ersichtlich.

Wurde zu obigem Nährmedium noch 10,0 g KNO₃ hinzugefügt (Nährboden II) und die sterilen Kölbchen nach ihrer Impfung dieselbe

1) System der Bakterien. II. p. 734.

2) Vorlesung über Bakterien. p. 308.

Zeit bei 34° C gehalten, trat bei allen, mit Ausnahme der Kontrollproben (ungeimpft und bebrütet), auf Zusatz von einigen Tropfen Jodkaliumstärkekleisters und 1–2 Tropfen einer 10-proz. Schwefelsäure intensive Blaufärbung ein, was die Reduktion des Nitrates zu Nitrit anzeigte, eine Erscheinung, welche auch Harrison als gemeinschaftliches Charakteristikum seiner untersuchten Gasbildner beobachtet hat.

Kurze Beschreibung der untersuchten Stämme.

No. 129. Beweglicher Gärungserreger mit sogenanntem Aërogenes-Typus.

Fundort: Milch.

Gelatineplatten 8 Tage bei 16–20°: 1 mm im Durchmesser fassende, völlig runde, glattrandige, in der Mitte erhabene, grauweiße, glänzende Kolonien, die Gelatine um den Kolonienrand schwach eingesunken. Mikroskopisch betrachtet erscheinen die Kolonien rund, glattrandig, schwarz konturiert, konzentrisch geschichtet und homogen fein gekörnt. Im hängenden Tropfen sind die Bakterien einer 8 Tage alten Kultur kaum beweglich.

Agarstrich 4 Tage bei 16–22°: Flacher, grauweißer, glänzender, glattrandiger, in durchfallendem Lichte durchsichtiger, gelblich gallertartig schimmernder Streifen. Im hängenden Tropfen: Deutliche Bewegung, 1–2 monopolare Geißeln vorhanden. Nach 14 Tagen: Ammoniak- und Stallgeruch.

Kartoffelkultur 48 Stunden bei 20°: Deutliche Bewegung. Nach 14 Tagen: Gutes Wachstum, vasinartige Konsistenz, bräunlich, glänzend, Ammoniakgeruch.

Bouillonkultur 24 Stunden bei 34°: Deutliche Gärung und Trübung. Schwache Bewegung im gärenden Tropfen.

Heuinfus 5 Tage bei 20°: Trübung und deutliche Bewegung.

Nährboden I 5 Tage bei 34°: Starke Trübung, schwache Indolbildung.

Nährboden II 5 Tage bei 34°: Starke Trübung, deutliche Nitritreaktion.

Milchkultur 6 Tage bei 20–22°: Schwacher Stallgeruch, 48 Stunden bei 32° bringen Gerinnung hervor, Geschmack säuerlich, nicht unangenehm.

Raffinose, Rohrzucker, α -Methylglykosid erfahren keine Gärung, der ursprüngliche Aciditätsgrad der ungeimpften, sterilen Lösungen ist ganz verschwunden, 1 Tropfen

von $\frac{n}{4}$ NaOH genügt zur intensiven Rotfärbung. Mannitlösung vergärt unter lebhafter Gasbildung, auf Rohrzucker und Methylglykosidlösung bilden sich metallisch irisierende, häutige Decken, sämtliche Lösungen werden intensiv getrübt.

Mannit beansprucht pro 50 ccm 2,9, Maltose 1,3, Dextrose 2,8, Galaktose 2,1, Milchzucker 2,3, Traubenzucker 3,5, Arabinose 1,8, Xylose 2,4 und Lävulose 3,5 ccm $\frac{n}{4}$ NaOH.

No. 465. Beweglicher Gärungserreger.

Fundort: in selbstgefertigter Schotte.

Gelatineplatten 3 Tage bei 16–20°: Makroskopisch wie mikroskopisch coli-artiger Typus; im hängenden Tropfen Bewegung fraglich.

Agarstrich innerhalb 24 Stunden bei 34°: Deutliche Bewegung, Fadenbildung. Nach 14 Tagen bei 16–20°: Ammoniak- und Stallgeruch.

Kartoffelkultur 24 Stunden bei 20°: Einzelne Bakterien sehr beweglich. 1–2 monopolare Cilien vorhanden. Nach 14 Tagen: Breite, erhabene, bräunlichgelbe, glänzende, breiige Impfstreifen; deutliche Bildung von Ammoniak und Geruch nach Stall.

Bouillonkultur 24 Stunden bei 34°: Starke Trübung, einzelne Bakterien mit deutlicher Bewegung.

Heuinfus wie 464: Schleimbildung, schwache Trübung nach 48 Stunden bei 16–20°; keine Bewegung.

Nährboden I: Deutliche Rosafärbung

Nährboden II: Deutliche Nitritreaktion.

Milchkultur 5 Tage bei 20–22°: Sehr schwache Gärung, schwach faulig und Geschmack: schwach jauchig.

Verhalten in den verschiedenen Zuckerlösungen gerade wie No. 129. Zur Neutralisation von je 50 ccm Mannit sind 3,0, von Maltose 2,7, von Dextrose 2,3, von Galaktose 2,4, von Milchzucker 2,2, von Traubenzucker 3,5, von Arabinose 2,4, von Xylose 2,0,

von Lävulose 4,0 ccm $\frac{n}{4}$ NaOH notwendig.

No. 478. Beweglicher Gärungserreger.

Fundort: wie 479.
Gelatineplatten Typus und Bewegung gerade wie 479.
Agarstrich: Keine Bewegung, im übrigen wie 485.
Kartoffelkultur innerhalb 24 Stunden bei 34°: Alle Bakterien sehr beweglich, besitzen 1—2 monopolare Cilien. Nach 14 Tagen sind breite erhabene, glänzende, bräunlichgelbe, breiige Impfstreifen herangewachsen, Ammoniakbildung mit befeuchtetem Lackmuspapier deutlich nachweisbar (conf. 464).
Bouillonkultur 24 Stunden bei 34°: Trübung. Einzelne Bakterien besitzen Bewegung.
Heuinfus wie bei 464: Schleimbildung und Trübung nach 48 Stunden bei 16—20°. Bewegung fraglich.
Nährboden I: Deutliche, intensive Rosafärbung auf Nitritzusatz.
Nährboden II: Intensive Blaufärbung.
Milchkultur gerade wie 479.
Gelatine-Schüttelkultur nach 3 Tagen bei 16—20: Starke Gasbildung.
Den Zuckerarten gegenüber wie 479.
50 ccm Mannitlösung verbrauchen 2,4, Maltose 1,5, Dextrose 2,6, Galaktose 1,4, Traubenzucker 2,3, Xylose 1,2 und Lävulose 3,0 ccm $\frac{n}{4}$ NaOH zur Sättigung.

No. 479. Beweglicher Gärungserreger.

Fundort: getriebener Käse.
Gelatineplatten 48 Stunden bei 16—20°: Coliartiger Typus, sowohl makro- wie mikroskopisch wie 478. Im hängenden Tropfen Bewegung fraglich.
Agarstrich 15 Stunden bei 34°: Keine Bewegung.
Kartoffelkultur wie 485. Einzelne Bakterien sind deutlich beweglich, 1—2 monopolare Geißeln vorhanden.
Bouillonkultur bei 24° wird innerhalb 24 Stunden trübe, schleimig und fadenziehend, die Bakterien sind unbeweglich.
Heuinfus 48 Stunden bei 16—20°: Schwache Trübung, Schlierenbildung wie 464. Im hängenden Tropfen: Deutliche Bewegung.
Nährboden I: Schwache Indolbildung.
Nährboden II: Starke Nitratreduktion.
Milchkultur 5 Tage bei 16—20°: Gärung nicht sichtbar. Geruch schwach jauchig. Geschmack: Schwach prickelnd, salzig, mit stallartigem Nachgeschmack.
Gelatine-Schüttelkultur nach 3 Tagen bei 16—20°: Starke Gasbildung.
Milchzucker, Raffinose, Rohrzucker, α -Methylglykosid werden nicht vergärt, der ursprüngliche Säuregrad ist durch Ammoniakbildung neutralisiert, in Rohrzucker und Methylglykosidlösung entsteht eine starke, metallisch irisierende Haut, sämtliche Lösungen werden intensiv getrübt und Mannit unter Gasentwicklung zersetzt. Es verbrauchen 50 ccm: Mannit 2,3, Maltose 2,1, Dextrose 1,7, Galaktose 2,4, Traubenzucker 2,5, Xylose 1,0 und Lävulose 4,0 ccm $\frac{n}{4}$ NaOH zur Sättigung.

No. 482. Beweglicher Gärungserreger.

Fundort: wie 479.
Gelatineplatten 4 Tage bei 16—20°: Coli-Typus. Im hängenden Tropfen: deutliche Bewegung; 1—2 monopolare Diplostäbchen, je 1 polare Geißel.
Agarstrich 4 Tage bei 22°: Deutliche Bewegung vorhanden, im übrigen wie 485.
Kartoffelkultur 48 Stunden bei 16—20°: Gelblichweiße, glänzende, breiige Auflagerung, nach 14 Tagen Wachstum verhältnismäßig gering, bräunlichweiße Färbung des Belages. 48 Stunden alte Kultur zeigt deutliche Bewegung.
Bouillonkultur 24 Stunden bei 16—20°: Deutliche Trübung, beim Schütteln Gasentwicklung; im hängenden Tropfen starke Bewegung. Kultur 24 Stunden bei 34° zeigt dieselben Erscheinungen, im hängenden Tropfen ist aber nur schwache Bewegung vorhanden.
Heuinfus 48 Stunden bei 16—20: Trübung. Deutliche Bewegung.
Nährboden I: Kein Indol.
Nährboden II: Deutliche Nitritreaktion.
Milchkultur 24 Stunden bei 34°: Deutliche Gärung. Bakterien mit deutlicher Bewegung. Sechstägige Milchkultur bei 20—22° besitzt einen stinkenden Geruch, eine 2 Tage alte Kultur schmeckt etwas faulig, aber nicht unangenehm, Stallgeruch nicht vorhanden.
Verhält sich wie 479 bezüglich der Zuckerarten.

Für 50 ccm Mannitlösung wurden 1,5, für Maltose 1,1, für Dextrose 1,7, für Galaktose 1,7, für Traubenzucker 2,5, für Xylose 1,0 und für Lävulose 1,8 ccm $\frac{n}{4}$ NaOH verlangt.

No. 484. Beweglicher Gärungserreger.

Fundort: wie 479.

Gelatineplatten 3 Tage bei 16–20°: Habitus der Oberflächenkolonien: Coli-Typus. Die Tiefkolonien sind, mikroskopisch betrachtet, rund bis oval, glattrandig, schwarz konturiert und fein gekörnt. Die Platten riechen nach 8 Tagen direkt nach Schweinestall. Im hängenden Tropfen sind die Bakterien der Oberflächenkolonien sehr beweglich.

Agarstrich: Eine 48-stündige Aufbewahrung bei 16–20° verleiht sämtlichen Individuen eine sehr lebhaftige Bewegung, welche durch 1–2 monopolare Cilien hervorgerufen wird. Wachstum im übrigen wie 485.

Kartoffelkultur wie 485. Im hängenden Tropfen: Deutliche Bewegung.

Bouillonkultur 24 Stunden bei 34°: Gerade wie 485.

Heuinfus 24 Stunden bei 16–20°: Gerade wie 485. Im hängenden Tropfen: Deutliche Bewegung.

Nährboden I: Kein Indol.

Nährboden II: Starke Nitritbildung.

Milchkultur 5 Tage bei 20°: Eigentümlicher süßlicher Geschmack. Kein Stallgeruch.

Gelatine-Schüttelkultur nach 4 Tagen: Einzelne Gasblasen.

Verhalten gegenüber den Zuckerarten gerade wie 479.

50 ccm Mannitlösung gebrauchen 2,5, Maltose 1,0, Dextrose 1,7, Traubenzucker 2,1, Xylose 1,2 und Lävulose 4,0 ccm $\frac{n}{4}$ NaOH.

No. 485. Beweglicher Gärungserreger.

Fundort: Cocosmelasse.

Gelatineplatten 3 Tage bei 16–20°: Die Oberflächenkolonien besitzen coliartigen Habitus, d. h. sie sind flach ausgebreitet, dünn, beinahe häutchenartig, durchsichtig, gegen das Licht gehalten bläulich schimmernd, haben einen gezackten, bis weinblattartigen Umriss. Mikroskopisch erscheinen die Tiefkolonien rund bis oval, glattrandig, gekörnt, im Innern häufig lockenkopffartig, während die Oberflächenkolonien alle durchweg ein zusammenhängendes Furchensystem oder eine lockenkopffartige Zeichnung, wie *Bacillus anthracis*, in Gelatinekulturen aufweisen. Im hängenden Tropfen sind die Individuen aus den Oberflächenkolonien alle deutlich beweglich.

Agarstrich: Innerhalb 24 Stunden bei 34° besitzen die Bakterien eine lebhaftige Bewegung, eine Geißelfärbung nach Zettnow läßt 1–2 monopolare Geißeln deutlich erkennen. 3 Tage bei 16–20° lassen einen grauweißen, flachen, breiten, gegen das Licht gehalten durchscheinenden, glänzenden, wässrig breiigen Belagstreifen heranwachsen.

Kartoffelkultur: Nach 48 Stunden sind im Dunkeln bei 16–20° weißliche bis schwach gelbliche Impfstreifen entstanden. Die Bewegung der einzelnen Bakterien von dieser Kultur ist kaum zu erkennen. Die Impfstreifen bleiben späterhin immer matt.

Bouillonkultur: Eine Bebrütung von 24 Stunden bei 34° bewirkt eine starke Trübung der Kulturflüssigkeit, in welcher beim Schütteln eine deutliche Gasbildung auftritt neben Schleimbildung. Nach weiteren 7 Tagen bei 19° tritt intensive Deckenbildung ein, die in einem metallischen Glanze, etwa wie erhitzter Stahl, schillert. Im hängenden Tropfen dieser Kultur ist deutliche Bewegung vorhanden.

Heuinfus mit saurer Reaktion erleidet innerhalb 24 Stunden bei 16–20° ebenfalls deutliche Trübung, beim Schütteln ist deutliche Gasentwicklung zu beobachten, später deutliche Deckenbildung. Eine deutliche Bewegung im hängenden Tropfen veranlaßt auch dies Kulturmedium.

Nährboden I: Eine Rosafärbung trat nicht ein, selbst nicht bei Zusatz einiger Tropfen in $\frac{1}{2}$ ‰ Lösung von Natriumnitrit. Indol war mithin nicht gebildet worden.

Nährboden II: Nitritbildung.

Milchkultur 5 Tage bei 20°: Schwach nach Trimetylammin (Stallgeruch). Salzig, bitter, unangenehmer, fauliger Geschmack, an Stall erinnernd.

Sämtliche 12 Zuckerarten und Süßstoffe werden vergärt, Mannit- und Bohrzuckerlösung mit deutlicher Gasbildung.

Für 50 ccm Mannitlösung werden 1,8, für Maltose 1,45, für Dextrose 1,9, für Galaktose 2,0, für Milchzucker 1,6, für Traubenzucker 1,9, für Raffinose 1,4, für Arabi-

nose 4,8 für α -Methylglykosid 1,4, für Xylose 1, für Rohrzucker 1,7 und für Lävulose 3,0 ccm $\frac{n}{4}$ NaOH verbraucht.

No. 488. Beweglicher Gärungserreger.

Fundort: Roggenstreu.

Gelatineplatten: Oberflächenkolonien = Coli-Typus. Tiefkolonien erscheinen mikroskopisch rund bis oval, glattrandig, feingekörnt. In älteren Platten deutlicher Stallgeruch. Bewegung 3 Tage alter Kulturen bei 16—20° fraglich.

Agarstrich innerhalb 24 Stunden bei 34°: Im hängenden Tropfen sind einzelne Individuen deutlich beweglich, vorhanden sind 1—2 monopolare Cilien. Nach 14 Tagen bei 16°: Ammoniak- und Stallgeruch.

Kartoffelkultur wie 485. Bewegung keine vorhanden.

Bouillonkultur innerhalb 24 Stunden bei 34°: Starke Trübung und Neigung zur (Oberhautbildung) Deckenbildung. Im hängenden Tropfen einzelne Stäbchen deutlich beweglich.

Heuinfus bei 34° innerhalb 24 Stunden: Deutliche Trübung. Im hängenden Tropfen: Deutliche Bewegung. Später deutliche Deckenbildung.

Nährboden I: Deutliche Rosafärbung, welche bei Nitritzusatz sehr intensiv wird.

Nährboden II: Starke Nitritbildung.

Milchkultur: Etwas nach Brot, schwache Gärung.

α -Methylglykosid erleidet keine Vergärung, ein Tropfen $\frac{n}{4}$ NaOH genügt zur Neutralisation, mithin war der ursprüngliche Säuregrad von 1,2 $\frac{n}{4}$ NaOH pro 50 ccm Lösung schon durch Ammoniakbildung abgestumpft. Mannit gärt unter lebhafter Gasbildung.

Es sind zur Neutralisation von 50 ccm Mannit 3,0, von Maltose 3,1, von Dextrose 2,5, von Galaktose 2,0, von Milchzucker 2,9, von Traubenzucker 2,6, von Raffinose 2,2, von Arabinose 2,00, von Xylose 2,2, von Rohrzucker 2,0 und von Lävulose 2,9 ccm $\frac{n}{4}$ NaOH erforderlich.

No. 489. Beweglicher Gärungserreger.

Fundort: Roggenstreu.

Gelatineplatten 3 Tage bei 16—20°: Coli-Typus der Oberflächenkolonien. Tiefkolonien und Oberflächenkolonien weisen mikroskopisch lockenkopffartige Zeichnungen auf. Im hängenden Tropfen: Keine Bewegung.

Agarstrich 24 Stunden bei 34°: Im hängenden Tropfen: Deutliche Bewegung; 1—2 monopolare Geißeln. Im übrigen wie 485. Nach 14 Tagen: Ammoniak- und Stallgeruch.

Kartoffelkultur wie 485. Im hängenden Tropfen: Keine Bewegung.

Bouillonkultur 24 Stunden bei 34°: Starke Trübung. Im hängenden Tropfen nur einzelne Bakterien beweglich. Nach weiteren 7 Tagen ist starke Deckenbildung eingetreten, letztere metallisch glänzend, etwas schleimig und fadenziehend.

Heuinfus 24 Stunden bei 34°: Trübung von unten her. Im hängenden Tropfen: Deutliche Bewegung. Später wie 485.

Nährboden I: Deutliche Rosafärbung auf Nitritzusatz.

Nährboden II: Deutliche Nitritreaktion.

Milchkultur: Eigentümlicher süßlicher Geschmack, kein Stallgeruch. Schwache Gärung.

Verhalten in Zuckerarten wie 485.

Mannit brauchte 3,0, Maltose 2,1, Dextrose 2,8, Galaktose 2,3, Milchzucker 3,2, Traubenzucker 3,7, Raffinose 2,2, Arabinose 2,5, Xylose 2,2, Rohrzucker 2,0 und Lävulose 5,0 ccm $\frac{n}{4}$ NaOH für 50 ccm Lösung.

No. 490. Beweglicher Gärungserreger.

Fundort: Quark.

Gelatineplatten 3 Tage bei 16—20°: Oberflächenkolonienhabitus: Coli-Typus. Tiefkolonien sind mikroskopisch rund bis oval, schwarz konturiert, feingekörnt. Im hängenden Tropfen ist eine Bewegung mit Sicherheit nicht zu konstatieren.

Agarstrich 24 Stunden bei 34°: Deutliche Bewegung, 1 monopolare Geißel. Im übrigen wie 485.

Kartoffelkultur: Verhalten wie 485, im hängenden Tropfen aber keine Bewegung.

Bouillonkultur 24 Stunden bei 34°: Starke Trübung und Schleimbildung, beim Schütteln entsteht Gasbildung. Im hängenden Tropfen: Deutliche Bewegung. Nach 7 Tagen bildet sich bei 16–20° ein aus Zoogloen bestehender, am Glasrande sitzender, zusammenhängender Ring, gerade wie bei No. 23 a.

Heuinfus gerade wie 485: Im hängenden Tropfen: Keine Bewegung.

Nährboden I: Indolbildung.

Nährboden II: Nitritbildung.

Milchkultur 5 Tage bei 20°: Gärung nicht sichtbar. Geruch: Nicht gerade unangenehm. Geschmack: Ganz schwach jauchig. (Vielleicht eine von den Kulturen, die den erfrischenden, tierischen Geruch der Milch verursachen.) Conf. 476.

Verhalten in Zuckerarten wie 129.

Mannit gebrauchte 2,6, Maltose 1,9, Dextrose 2,5, Galaktose 2,0, Milchzucker 2,1, Traubenzucker 2,6, dasselbe Arabinose, Xylose 2,2 und Lävulose 4,0 ccm $\frac{n}{4}$ NaOH pro 50 ccm.

No. 23. Unbeweglicher Gärungserreger.

Fundort: Kuhkot.

• Gelatineplatten 5 Tage bei 16–20°: Aërogenes-Typus. Keine Bewegung. Agarstrich 24 Stunden bei 34°: Keine Bewegung. Strich schleimig und fadenziehend.

Kartoffelkultur 48 Stunden bei 20° im Dunkeln aufbewahrt: Keine Bewegung. Gelbliche, matte Auflagerungen.

Bouillonkultur 24 Stunden bei 34°: Starke Trübung, beim Schütteln starke Gärung. Keine Bewegung vorhanden. Nach 7 Tagen bei 20°: Starke Deckenbildung, metallisch und glänzend. Flüssigkeit: Schleimig und fadenziehend.

Heuinfus 24 Stunden bei 34°: Keine Trübung. Gasbildung. Keine Bewegung.

Nährboden I: Schwache Indolbildung.

Nährboden II: Nitritbildung.

Milchkultur 5 Tage bei 16–20°: Schleimig, stark fadenziehend, gärend, alkoholischer Geruch.

In Mannit- und Rohrzuckerlösung tritt nach 24 Stunden bei 34° Trübung und starke Gasentwicklung ein. 50 ccm beanspruchen 2,5 ccm $\frac{n}{4}$ NaOH nach 3 Tagen bei 34°, von Maltose werden 1,8, von Dextrose 2,4, von Galaktose 1,9, von Milchzucker 2,7, von Traubenzucker 2,1, von Raffinose 1,9, von Arabinose 1,6, von α -Methylglykosid 1,8, von Xylose 1,4, von Rohrzucker 2,3 und von Lävulose 2,5 ccm $\frac{n}{4}$ NaOH zur Sättigung verlangt; die Rohrzuckerlösung zeigt deutliche Gasbildung und ist gelatinös, während die vorhergehenden alle schleimig und fadenziehend sind; Trübung der Flüssigkeiten tritt überall auf.

No. 23 a. Unbeweglicher Gärungserreger.

Fundort: Kuhkot.

Gelatineplatten 48 Stunden bei 20°: Coli-Typus. Keine Bewegung.

Agarstrich bei 34° nach 24 Stunden keine Bewegung, Fadenbildung vorhanden.

Kartoffelkultur 48 Stunden bei 20° im Dunkeln: Keine Bewegung. Nach 14 Tagen deutlicher Geruch nach Trimethylamin; gelbliche, matte Streifen.

Bouillon 24 Stunden bei 34°: Starke Trübung, beim Schütteln Gasbildung. Keine Bewegung. Nach 7 Tagen bildet sich ein zusammenhängender Ring und kleinere Zoogloen.

Heuinfus 24 Stunden bei 34°: Trübung von unten, Gasbildung. Keine Bewegung. Später Bildung einer Haut auf der Oberfläche.

Nährboden I: Schwache Indolreaktion, mit Nitrit sehr stark.

Nährboden II: Nitritbildung.

Milchkultur 6 Tage bei 20°: Gärung. Geruch: Etwas alkoholisch, scharf nach Trimethylamin. Geschmack: Salzig, bitter, unangenehm nach Kot.

Innerhalb 24 Stunden bei 34° erfolgt in Mannit- und Rohrzuckerlösung lebhaftes Gasentwicklung; die anderen 9 Zuckerarten erleiden gleichfalls Zersetzungen mit mehr oder minder starker Trübung des jeweiligen Nährsubstrates. 2,5 ccm $\frac{n}{4}$ NaOH sind notwendig zur Neutralisation von 50 ccm Mannit, 1,2 für Maltose, 2,6 für Dextrose, 2,2 für Galaktose, 1,6 für Milchzucker, 1,9 für Traubenzucker, 1,7 für Raffinose, 2,0 für Arabinose, 1,8 für α -Methylglykosid, 2,2 für Xylose, 2,0 für Rohrzucker, 2,5 für Lävulose.

No. 20. Unbeweglicher Gärungserreger.

Fundort: Milch.

Gelatineplatten 4 Tage bei 20°: Coli-Typus. Keine Bewegung.

Agarstrich 3 Tage bei 16–20°: Grauweißer glänzender Belagstreifen. Keine Bewegung.

Kartoffelkultur 48 Stunden bei 20°: Weißliche, erhabene, glänzende, breiige Auflagerungen. Keine Bewegung. Nach 14 Tagen: Deutlicher ammoniakalischer und Stall-Geruch vorhanden.

Bouillon 24 Stunden bei 34°: Starke Trübung und Gärung. Keine Bewegung.

Heuinfus 24 Stunden bei 16–20°: Schwache Trübung. Keine Bewegung.

Nährboden I: Indol.

Nährboden II: Nitritbildung.

Milchkultur 12 Stunden bei 32°: Geronnen, deutlicher Stallgeruch beim Lüften des Stopfens.

Gelatine-Stichkultur 3 Tage bei 16–20°: Wachstum im Kanal wie Oberfläche gut. Coli-Typus. Gasbildung. Keine Bewegung.

Mannit und Rohrzucker zeigen in 24 Stunden bei 34° lebhaftige Gärung, 50 ccm ersterer Lösung beanspruchen 2,3, letzterer 2,5 ccm $\frac{n}{4}$ NaOH.

50 ccm Milchzucker verlangen 1,8, Maltose 1,4, Dextrose 2,1, Galaktose 1,8, Traubenzucker 2,0, Arabinose 2,4, α -Methylglykosid 1,6, Xylose 1,6 und Lävulose 2,5 ccm $\frac{n}{4}$ NaOH. Trübung ist bei allen Lösungen vorhanden.

No. 130. Unbeweglicher Gärungserreger.

Fundort: Rüben.

Gelatineplatten 8 Tage bei 16–20°: Stallgeruch deutlich ausgeprägt. Coli-Typus, aber die Oberflächenkolonien sind nicht glänzend, sondern matt und trocken; mikroskopisch lockenkopffartige Zeichnungen. Keine Bewegung vorhanden.

Agarstrich 5 Tage bei 16–20°: Flacher, dünner, matter, ziemlich breiter, grauweißer Belagstreifen. Keine Bewegung. Nach 14 Tagen deutlicher Stallgeruch.

Kartoffelkultur wie 362: 48 Stunden bei 16–20°: Gelblichweiße, vaselineartig weiche, glänzende Streifen. Keine Bewegung. Nach 14 Tagen: Bräunlichgelbe, vaselineartig weiche, glänzende, dicke Auflagerungen mit Stall- und ammoniakalischem Geruche.

Bouillon 24 Stunden bei 34°: Keine Trübung, aber deutliche Gärung. Keine Bewegung.

Heuinfus 48 Stunden bei 16–20°: Trübung. Keine Bewegung.

Nährboden I: Indolbildung, mit Nitrit sehr intensive Reaktion.

Nährboden II: Nitritbildung.

Milchkultur nach 5 Tagen bei 20°: Schwacher Stallgeruch und Geschmack. Schwache Gärung.

Keine Vergärung von α -Methylglykosid, aber Bildung von Alkali, starke Gasbildung in Mannitlösung. In allen Nährböden starke Trübung, aber keine Hautbildung.

Für 50 ccm Mannitlösung sind 2,8, für Maltose 1,0, für Dextrose 2,4, für Galaktose 1,9, für Milchzucker 1,6, für Traubenzucker 1,5, für Raffinose 1,2, für Arabinose 2,6, für Xylose 1,8, für Rohrzucker 1,3 und für Lävulose 2,5 ccm $\frac{n}{4}$ NaOH nötig zur Neutralisation.

No. 165. Unbeweglicher Gärungserreger.

Fundort: Eingesandt als *Bacillus communis*.

Gelatineplatten 4 Tage bei 16–20°: Coli-Typus. Keine Bewegung.

Agarstrich 3 Tage bei 16–20°: Keine Bewegung, gerade wie No. 20.

Kartoffelkultur 48 Stunden bei 20°: Keine Bewegung vorhanden. Nach 14 Tagen ist das Wachstum sehr gering; gelblichweiße, matte, trockene, schmale und dünne Auflagerungen.

Bouillon innerhalb 24 Stunden bei 34°: Deutliche und starke Gärung. Keine Bewegung.

Heuinfus 48 Stunden bei 16–20°: Trübung. Keine Bewegung.

Nährboden I: Indol.

Nährboden II: Nitritbildung.

Milchkultur 6 Tage bei 16–20°: Schwacher Stallgeruch; innerhalb 24 Stunden bei 34° ist Gärung vorhanden, nach 48 Stunden ist Gerinnung eingetreten.

Gelatinestich 15 Proz. 3 Tage bei 16–20°: Coli-Typus, Wachstum im Kanal gut. Gasbildung. Keine Bewegung.

Verhalten gegenüber Mannit, Raffinose, Rohrzucker und α -Methylglykosid wie 506, metallisch irisierende Haut auf Rohrzucker und α -Methylglykosidlösung.

50 ccm Mannitlösung gebrauchen 2,9, Maltose 1,8, Dextrose 3,0, Galaktose 2,1, Milchzucker 1,9, Traubenzucker 2,8, Arabinose 2,0, Xylose 2,2 und Lävulose 3,0 ccm $\frac{n}{4}$ NaOH.

No. 362. Unbeweglicher Gärungserreger.

Fundort wie 363.

Gelatineplatten wie No. 130 und deutlichem Stallgeruch. Keine Bewegung. Agarstrich gerade wie 130: Keine Bewegung. Nach 14 Tagen: Ammoniak- und Stallgeruch.

Kartoffelkultur gerade wie 130: Keine Bewegung.

Bouillon innerhalb 24 Stunden bei 34°: Keine Trübung, aber deutliche Gärung. Keine Bewegung.

Heuinfus 4 Tage bei 16–20°: Schwache Trübung. Keine Bewegung.

Nährboden I: Indolbildung, mit Nitrit sehr intensive Reaktion.

Nährboden II: Nitritreaktion.

Milchkultur 6 Tage bei 20°: Schwacher Stallgeruch.

Bezüglich Mannit, Raffinose, Rohrzucker, α -Methylglykosid wie 506, Hautbildung in den beiden Lösungen, metallisch irisierend wie 506.

Für 50 ccm Mannitlösung sind 3,2, für Maltose 1,0, für Dextrose 1,5, für Galaktose 1,4, für Milchzucker 2,2, für Traubenzucker 2,6, für Arabinose 1,5, für Xylose 2,2, und für Lävulose 3,2 ccm $\frac{n}{4}$ NaOH erforderlich.

No. 363. Unbeweglicher Gärungserreger.

Fundort: In sogenannter saurer Butter.

Gelatineplatten 5 Tage bei 16–20°: Coli-Typus. Oberflächenkolonien blattartig, wellenförmige Struktur am Rande, Tiefkolonien runde, glattrandig, schwarz konturiert, fein gekörnt. Im hängenden Tropfen: Keine Bewegung. Nach 10 Tagen Stallgeruch deutlich vorhanden.

Agarstrich 5 Tage bei 16–20°: Grauweißer, erhabener, schmaler, breiig aussehender, glänzender Belagstreifen. Nach 14 Tagen: Ammoniak- und Stallgeruch. Keine Bewegung.

Kartoffelkultur 48 Stunden bei 16–20°: Glänzende, gelblichweiße, breiige Auflagerungen. Im hängenden Tropfen: Unbeweglich. Nach 14 Tagen deutlicher Ammoniakgeruch vorhanden.

Bouillonkultur innerhalb 24 Stunden bei 34°: Starke Trübung und Gärung. Keine Bewegung.

Heuinfus nach 48 Stunden bei 16–20°: Deutliche Trübung. Keine Bewegung vorhanden.

Nährboden I: Indolbildung, Reaktion auf Nitritzusatz sehr stark.

Nährboden II: Nitritbildung.

Milchkultur 5 Tage bei 20°: Kein Stallgeruch, dagegen faulig, schmeckt säuerlich salzig; 48 Stunden bei 34° koagulieren die Milch.

Gärung in Mannit, metallisch irisierende Haut, in α -Methylglykosid und Rohrzuckerlösung, diese zwei letzteren und Raffinose verhalten sich wie 506.

Mannitlösung gebraucht 3,0, Maltose 1,5, Dextrose 2,8, Galaktose 2,1, Milchzucker 2,0, Traubenzucker 3,1, Arabinose 2,4, Xylose 2,4 und Lävulose 4,0 pro 50 ccm jeweiliger Lösung.

No. 452. Unbeweglicher Gärungserreger.

Fundort: In selbst gewonnener Milch.

Gelatineplatten 48 Stunden bei 16–20°: Coli-Typus. Keine Bewegung.

Agarstrich 24 Stunden bei 34°: Keine Bewegung. Nach 14 Tagen bei 16–20°: Gelblicher, breiiger, glänzender Streifen. Ammoniak- und Stallgeruch.

Kartoffelkultur 48 Stunden bei 16–20°: Keine Bewegung. Nach 14 Tagen: Gelbbraune, dicke, breiige, glänzende Auflagerungen. Ammoniak- und Stallgeruch.

Bouillon 24 Stunden bei 34°: Keine Bewegung. Trübung.

Heuinfus 48 Stunden bei 16–20°: Keine Bewegung. Schlierenbildung, schwache Trübung.

Nährboden I: Indol.

Nährboden II: Nitritbildung.

Milchkultur 5 Tage bei 16–20°: Gärung. Geruch: schwach jauchig. Geschmack: Kräftig salzig, schwach jauchig.

Raffinose, Rohrzucker, α -Methylglykosid gerade wie 506, ebenso Mannit. Rohrzucker mit metallisch irisierender, dünner Haut.

Für 50 ccm Mannitlösung sind 2,9, für Maltose 2,1, für Dextrose 3,0, für Galaktose 2,5, für Milchzucker 2,5, für Traubenzucker 2,7, für Arabinose 2,0, für Xylose 2,0 und für Lävulose 4,5 ccm $\frac{n}{4}$ NaOH nötig.

No. 453. Unbeweglicher Gärungserreger.

Fundort: In selbst gewonnener Milch.

Gelatineplatten 48 Stunden bei 21—22°: Aërogenes-Typus. Keine Bewegung.

Agarstrich 15 Stunden bei 34°: Keine Bewegung. Nach 3 Wochen: Wahrnehmbarer Stallgeruch.

Kartoffelkultur innerhalb 24 Stunden bei 20°: Keine Bewegung. Nach 14 Tagen: Breite, dicke, glänzende, bräunlichgelbe, breiige Streifen; Ammoniakbildung vorhanden und ein eigentümlicher unangenehmer Geruch.

Bouillon 24 Stunden bei 34°: Trübung. Keine Bewegung.

Heuinfus 48 Stunden bei 16—20°: Schwache Trübung, Schlierenbildung. Keine Bewegung.

Nährboden I: Indol.

Nährboden II: Nitrit.

Milchkultur 5 Tage bei 20—22°: Sehr starke Gärung, kräftig jauchiger Geruch, urinartig. Geschmack: prickelnd jauchig. No. 453 ist hervorzuheben als ein Bakterium, das von den 28 untersuchten Stämmen den stärksten Stallgeruch und Stallgeschmack hervorruft.

Gelatine-Schüttelkultur ist innerhalb 2 Tagen sehr stark mit Gasblasen erfüllt.

Die Zuckerarten und Süßstoffe verhalten sich wie No. 20.

50 ccm Mannitlösung beanspruchen 2,1, Maltose 0,6, Dextrose 2,1, Galaktose 2,0, Milchzucker 2,0, Traubenzucker 1,7, Raffinose 2,3, Arabinose 1,0, α -Methylglykosid 1,8, Xylose 1,2, Rohrzucker 1,9 und Lävulose 2,4 ccm $\frac{n}{4}$ NaOH.

No. 464. Unbeweglicher Gärungserreger.

Fundort: In selbstbereiteter Schotte.

Gelatineplatten 5 Tage bei 16—20°: Coli-Typus der Oberflächenkolonien. Mikroskopisch: Unregelmäßig, am Rande gewellt. Im hängenden Tropfen: Keine Bewegung.

Agarstrich 15 Stunden bei 34°: Keine Bewegung. Im übrigen wie 485. Nach 14 Tagen: Ammoniak- und Stallgeruch.

Kartoffelkultur 24 Stunden bei 34°: Keine Bewegung. Nach 14 Tagen bei 16—20°: Breite, erhabene, glänzende, breiige Streifen; Ammoniakbildung vorhanden.

Bouillon innerhalb 24 Stunden bei 34°: Starke Trübung. Keine Bewegung.

Heuinfus 48 Stunden bei 16—20°: Schwache Trübung, Schlierenbildung. Keine Bewegung.

Nährboden I: Indolbildung.

Nährboden II: Nitritbildung.

Milchkultur 5 Tage bei 16—20°: Schwache Gärung, faulig, jauchig. Geschmack: Etwas jauchig.

Gelatine-Schüttelkultur: Gasbildung.

Hautbildung und Trübung wie 506, ebenso die Gärung in Mannit und Alkalibildung in Rohrzucker, Raffinose und α -Methylglykosid.

Mannit beansprucht 3,1, Maltose 1,7, Dextrose 2,1, Galaktose 2,8, Milchzucker 2,4, Traubenzucker 2,3, Arabinose 1,5, Xylose 2,4 und Lävulose 4,5 ccm $\frac{n}{4}$ NaOH für je 50 ccm Lösung.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Weitere Untersuchungen über die Bakterienkrankheit auf *Sesamum orientale*.

Von **Konstantin Malkoff**,

Direktor der Versuchsstation für Pflanzenschutz und Pflanzenbau in Sadovo, Bulgarien.

Mit 4 Tafeln.

Es ist mir vor 2 Jahren gelungen, eine neue Bakterienkrankheit auf *Sesamum* zu entdecken, welche damals nirgends bekannt gewesen ist. Die erste Mitteilung über diese Krankheit machte ich in dieser Zeitschrift, Bd. XI. 1903. p. 333—336.

Diese Krankheit befällt die Stengel wie auch die Blätter der *Sesamum*-Pflanze und verursacht auf derselben schwarze Fäule. Die stark befallenen Pflanzen sterben ab, die schwach befallenen entwickeln sich sehr schwach und geben kümmerliche Erträge. Die Erreger der Krankheit sind Bakterien, von denen ich noch vor 2 Jahren reine Kulturen erhielt. Mit diesen Bakterien habe ich Infizierungen auf gesunde Pflanzen vorgenommen, und in kurzer Zeit wurde die infizierte Pflanze von derselben Krankheit befallen. Diese Bakterien gehören zwei Gattungen an, welche sich ihrer Form und Lebensbedingungen nach voneinander deutlich unterscheiden. Schon bei der Isolierung der Bakterien auf Petrischalen mit Bouillon + Gelatine wurde bemerkt, daß die eine Gattung gelbe und die andere graue Kolonien bildet. Geimpft auf Bouillon + Gelatine, diejenigen, welche die grauen Kolonien bilden, lösen die Gelatine innerhalb 2—3 Tagen auf, während die anderen sie gar nicht oder zu langsam lösen. Zu ihrer genauen Untersuchung wurden die beiden Gattungen auf verschiedene Nährboden kultiviert. Das Resultat war:

1) Auf Bouillon + Agar entwickelten sich die gelbe Kolonien bildenden Bakterien sehr lebhaft, während die anderen sehr schwach, kaum merklich wuchsen.

2) Auf Zucker + Agar nach 48 Stunden entwickelten sich die beiden Gattungen sehr schnell, nur wurde es bemerkbar, daß die graue Kolonien bildenden Bakterien lebhafter wuchsen, also ganz das Gegenteil wie bei Bouillon + Agar. Daraus ist ersichtlich, daß die graue Kolonien bildenden Bakterien den Zucker vorziehen.

3) Die Milch gerinnt weder von der einen noch von der anderen Gattung. Nach 8 Tagen wurde bemerkt, daß die graue Kolonien bildenden Bakterien die Milch peptonisieren.

4) Auf sterilisierten Kartoffelstückchen entwickelten sich die beiden Gattungen sehr gut.

5) Auf Manit + Agar-Agar entwickelten sich die beiden Gattungen sehr schnell.

6) Auf Zwetschenextrakt 10 Proz. + Gelatine entwickelten sich die beiden wie auf Bouillon + Gelatine, aber schwächer.

7) Auf Rübenextrakt trat eine Entwicklung der beiden Gattungen erst nach 6—8 Tagen auf, dabei wurde der Extrakt trüb.

Außer auf den genannten Nährböden wurden die Bakterien auch im Extrakt von Sesamumblättern, 10 und 20 Proz. und Sesamumblätter-

saft + Gelatine geimpft. Auf diesen Nährböden entwickelten sich besser die gelbe Kolonien bildenden Bakterien als die anderen.

Zur Bestätigung der Annahme, daß diese Krankheit wirklich von Bakterien verursacht wird, wurden, wie im Jahre 1903, auch in diesem Jahre Isolierungen vorgenommen. Zu diesem Zwecke dienten Materialien von verschiedenen Pflanzenteilen: Stengel, Blätter und Blattstiele, welche sich in verschiedenen Stadien der Erkrankung fanden. Bei allen diesen Isolierungen auf Bouillon + Gelatine entwickelten sich die beiden Gattungen. Gewöhnlich wurden früher die gelbe und später die graue Kolonien bildenden Bakterien bemerkbar. Bemerkenswert war bei diesen Beobachtungen, daß auf den jungen kranken Pflanzenteilen bedeutend mehr die gelbe Kolonien bildenden Bakterien auftraten, während auf den alten, besonders auf den dicken Stengeln, die anderen sichtbar wurden.

Aus den Resultaten dieser Isolierungen und von den auf verschiedenen Nährböden ausgeführten Impfungen bin ich geneigt, den Schluß zu ziehen, daß die beiden Bakteriengattungen symbiotisch leben, von denen, bis die Pflanze noch jung ist, die gelben Bakterien die Oberhand haben, welche später den Platz den graue Kolonien bildenden Bakterien abtreten. Die letzten entwickeln sich in bedeutend größerem Umfange. Die beiden Gattungen entwickeln sich in den Pflanzenzellen, deren Inhalt sie ganz ausfüllen und auf Rechnung des Protoplasmas wachsen; dieselben erfüllen auch die Wassergefäße der Pflanze. Die mikrophotographischen Bilder zeigen mit Bakterien ausgefüllte Wassergefäße und Zellen.

Die gelbe Kolonien bildenden Bakterien, welche ich mit dem Namen *Bacillus Sesami* Malkoff bezeichnen werde, sind kleine Stäbchen, 1,2 μ lang und 0,9 μ dick, welche eine eigene schwache Bewegung zeigen. Ihre Oberfläche ist ganz mit Geißeln besetzt, welche an den beiden Enden länger sind. Die Geißeln lassen sich, wenn auch nicht leicht, weil sie sehr leicht abbrechen, nach Peplers Methode färben.

Die anderen, graue Kolonien bildenden Bakterien, die ich als *Pseudomonas Sesami* Malkoff bezeichne, sind auch Stäbchen, nur größer, bis 2 μ lang und 0,9 μ dick. Sie haben eine sehr starke schlangenartige Bewegung. Dieselben besitzen bloß an einem Pole Geißeln. Die Geißeln lassen sich nach derselben Methode färben, aber die Arbeit ist mit sehr großen Schwierigkeiten verbunden. Die mikrophotographischen Bilder stellen die beiden Bakterien dar. Sporen sind weder bei den ersten noch bei den letzten vorhanden.

Um weitere Aufklärung über das Verhalten der Bakterien zu studieren, habe ich verschiedene Topf- und Feldversuche angestellt.

I. Topfversuche. Es wurden einige Töpfe mit Boden vom Versuchsfelde, wo nie *Sesamum* angebaut worden ist, gefüllt. Zur größeren Sicherheit wurden ein paar Töpfe mit sterilisiertem Boden gefüllt. Zur Aussaat wurde benutzt:

- 1) *Sesamum*-Samen, behandelt mit 0,1 Proz. Formaldehyd.
- 2) *Sesamum*, unbehandelt.
- 3) Das Saatgut stammte von Pflanzen, die an dieser Krankheit sehr stark gelitten hatten.
- 4) Saatgut von ganz gesunden Pflanzen.

Die behandelten und unbehandelten Samen (1 und 2) stammten von kranken Pflanzen.

Das Resultat war:

Bei den allen Topfversuche, wo sterilisierter Boden und behandeltes Saatgut verwendet wurde, ist keine Krankheit zum Vorschein gekommen; bei den anderen dagegen haben sich sehr bald auf den Blättern die charakteristischen Flecken gezeigt.

II. Feldversuche. Es wurde *Sesamum* auf 2 große Parzellen gesät. Das Saatgut stammte vom Jahre 1903 und von Pflanzen, welche sehr stark an dieser Krankheit gelitten hatten. Die erste Parzelle wurde mit Saatgut, behandelt mit 0,1 Proz. Formaldehyd, bestellt, die andere — mit unbehandeltem Saatgut. Bei dem zweiten Versuch hatte sich die Krankheit noch im Juli gezeigt. Später machte dieselbe große Beschädigungen.

Es wurden später noch folgende Versuche gemacht:

1) Zwei Töpfe wurden mit Boden gefüllt und bei dem ersten wurde der Boden mit *Bacillus Sesami*, bei dem zweiten mit *Pseudomonas Sesami* infiziert. Das Saatgut wurde sterilisiert.

2) Auf sterilisierten Boden wurden Samen gesät, welche vorher sterilisiert waren und später

- a) mit *Bacillus Sesami* infiziert,
- b) mit *Pseudomonas Sesami* infiziert,
- c) mit Mischung beider Bakterien infiziert.

Das Resultat war:

Bei allen Versuchen erkrankten die Pflanzen noch beim Aufgehen und im Laufe von 10—12 Tagen starben sie ab. Daraus wird ersichtlich, daß die beiden Bakteriengattungen unabhängig voneinander die Krankheit hervorrufen können. Auffallend war der Effekt, welchen die Mischung beider Gattungen zur Folge hatte.

Bei der Bodeninfizierung trat die Krankheit in kleinem Umfange und später als bei Sameninfizierung auf.

Es wurden noch weitere Versuche vorgenommen, um nachzuweisen, ob die Bestellungszeit und die Menge der Feuchtigkeit im Boden irgendwelchen Einfluß auf die Intensität der Erkrankung haben. Es hat sich gezeigt, daß bei unbehandeltem Saatgute je früher die Aussaat erfolgt, desto mehr erkrankten die Pflanzen. (Das Säen fand am 10., 20., 30. Mai und 10. Juni statt.)

Auf feuchtem Boden haben die Pflanzen mehr an der Krankheit gelitten als auf dem trockenen.

Das Behandeln des Saatgutes mit 0,1 Proz. Formaldehyd innerhalb 4 Stunden wirkt vortrefflich, auch im größeren Umfange verwendet.

Tafelerklärung.

Taf. I stellt eine ganz gesunde und zwei von der Bakterienkrankheit beschädigte Pflanzen dar. Die Pflanze, welche in der Mitte liegt, ist gänzlich von der Krankheit zerstört.

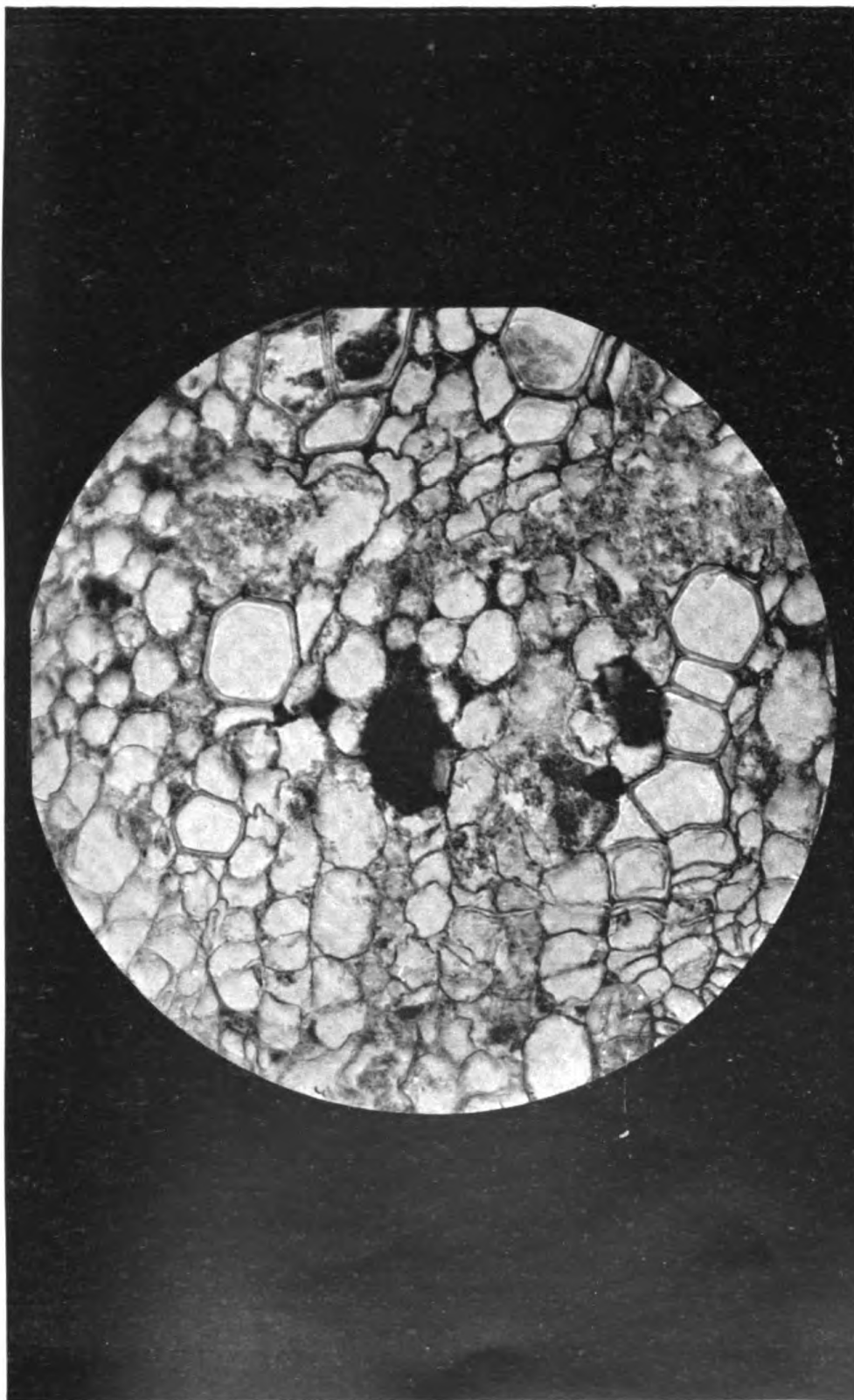
Taf. II und III stellen Zellen und Gefäße von Blattstielen dar, welche mit Bakterien gefüllt sind.

Taf. IV.

Fig. 1 stellt Kulturen auf Bouillon + Gelatine von beiden Bakteriengattungen dar. Rechts von *Bacillus Sesami*, welche die Gelatine nicht verflüssigt und links von *Pseudomonas Sesami*.

Fig. 2. *Pseudomonas Sesami* Malkoff, 900 mal vergrößert.

Fig. 3. *Bacillus Sesami* Malkoff, 1000 mal vergrößert.



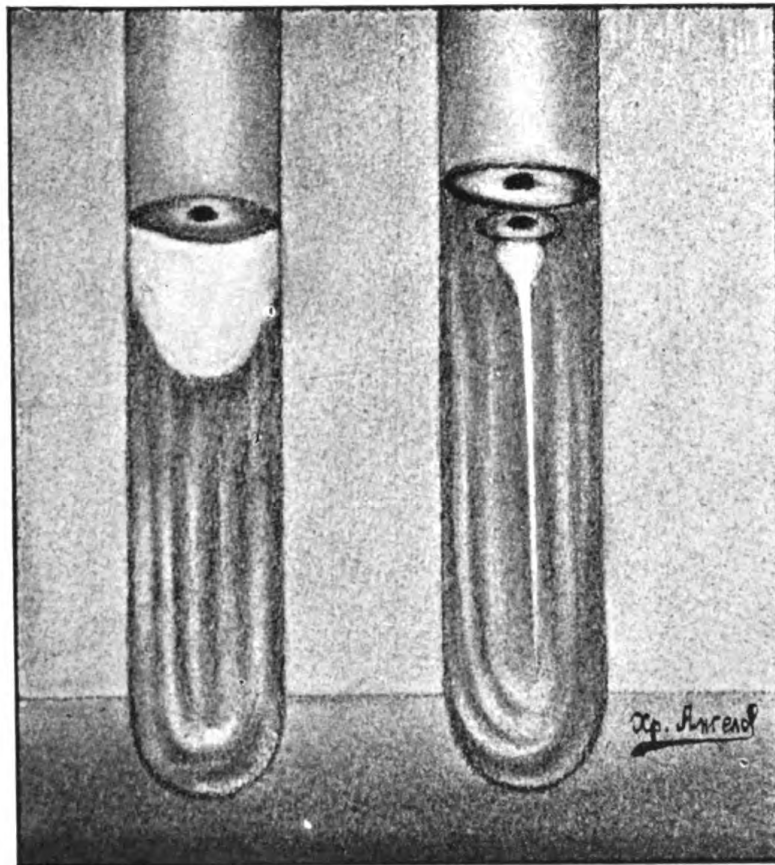


Fig. 1.



Fig. 2.

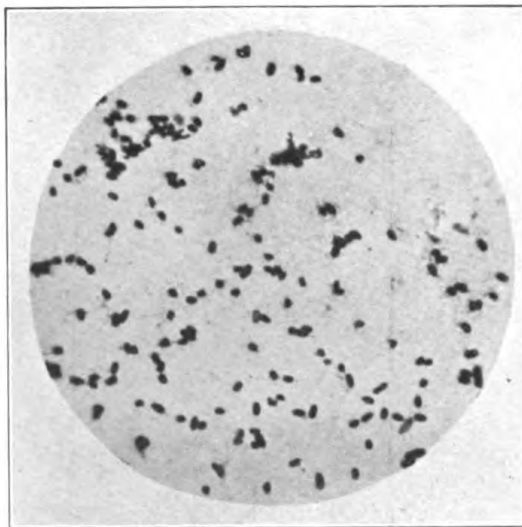


Fig. 3.

Nachdruck verboten.

Ueber die ultramikroskopische Untersuchung der Bakterien und über die Ultramikroorganismen.

Von N. Gaidukov, Privatdocent in Kiew.

Mit 9 Abbildungen.

Mit Hilfe des Ultramikroskopes nach Siedentopf¹⁾ habe ich folgende Bakterien untersucht²⁾:

1) *Bacillus typhi* Gaffky. Die Typhusbacillen aus einer reinen, frischen Kultur habe ich in lebendem Zustande untersucht. Die Bacillen waren sehr schön beweglich und ihre Form ist, ultramikroskopisch gesehen, folgende: Von oben oder von unten gesehen, hat der Bacillus die Form eines Punktes³⁾. Von der Flachseite dagegen erscheint er biskuit- bis 8-förmig⁴⁾. Die Form kann man mit den Formen einiger Desmidiaceen vergleichen, z. B. *Cosmarium*. Bei der Bewegung ändern die Bacillen ständig ihre Lage. Entweder befinden sie sich in vertikaler Stellung, dann ist nur ein Punkt zu sehen, oder sie befinden sich in horizontaler Stellung und dann zeigen sie einen biskuit- oder 8-förmigen Körper. Die Umwandlung geht sehr schnell vor sich und ist im Ultramikroskop sehr schön und klar zu beobachten. So sehen die Bakterien beim starken Fokussieren aus. Beim schwachen Fokussieren aber sieht man folgendes: Wenn man die Mikrometerschraube nur ein wenig nach oben dreht, so entstehen außer den Beugungsringen genau in der Mitte der Einschnürung des biskuit- oder 8-förmigen Körpers zwei strahlenartige Büschel⁵⁾. Bei der Anwendung der Apochromaten erscheinen die Bacillen ganz weiß. Dagegen zeigen sich bei der Anwendung der Achromaten die Interferenzfarben⁶⁾. Einige Bacillen sind viel länger und bestehen nicht aus einem, sondern aus zwei oder mehreren solcher biskuit- oder 8-förmigen Körper. Diese langen Bildungen⁷⁾ sind die Stadien der Teilung. Solche fadenähnliche Bildungen zerfallen in einzelne Bacillen, die ebenfalls die schon oben beschriebene Form haben.

Außer diesen Teilungsstadien habe ich noch eine andere sehr interessante Erscheinung beobachtet, die auf den ersten Blick der Vereinigung oder der Kopulation zweier Bacillen ähnelt. Von oben gesehen, ist dieses „Kopulationsstadium“ von der biskuit- oder 8-förmigen Seitenform der Bacillen schwer zu unterscheiden. Man sieht auch zwei Punkte,

1) Siedentopf, H., On the rendering visible of the ultramicroscopic bacteria. (Journ. Roy. micr. soc. 1903. p. 575.) Carl Zeiss'scher Prospekt, 1904, M. 164. Die Methodik vergl. N. Gaidukov, Ueber Untersuchungen mit Hilfe des Ultramikroskopes nach Siedentopf. (Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. XXIV. 1906. Heft II. p. 107.)

2) Vergl. E. Rählmann, Die ultramikroskopische Untersuchung von Glykogen, Albuminsubstanzen und Bakterien. (Berlin. Klin. Wochenschr. 1904. No. 8.) Die ultramikroskopische Untersuchung nach H. Siedentopf und R. Zsigmondy und ihre Anwendung zur Beobachtung lebender Mikroorganismen. (München. Med. Wochenschr. 1904. No. 2.) Ueber Trachom. (Beiträge z. Augenheilkunde. H. 62. 1905.) C. Siebert, Ultramikroskopische Bakterien-Photogramme. (Beitr. exper. Therapie. H. 10. 1205.)

3) Fig. 3a.

4) Fig. 3b.

5) Fig. 3c.

6) Außer der Zeiss'schen Oelimmersion 2 mm mit fester Dunkelfeldblende benutzte ich die trockenen Systeme, Achromat D und Achromat 4 mm mit fester Dunkelfeldblende.

7) Fig. 3d.

die eine 8 bilden¹⁾. Sie zeigen aber nicht den charakteristischen Beugungsbüschel. Dreht sich diese 8-förmige Bildung auf die andere Seite, so sieht man, daß sie aus zwei biskuitförmigen Bacillen besteht, die an den inneren Rändern verbunden sind und sich in einer gemeinsamen Hülle befinden²⁾. Beide Bacillen gehen sehr oft auseinander. Dieses Losreißen der genannten Bildung kann man, von oben gesehen³⁾, mit der Zellteilung verwechseln. Man sieht beide Punkte sich trennen. Doch beim Drehen dieser Punkte ist die für die Bacillen charakteristische, in der Mitte geschnürte Flachseite gleich zu sehen⁴⁾. Manchmal sind sie nicht nach der beschriebenen Weise, sondern kreuzförmig verbunden⁵⁾. Die Doppelbildungen der Bakterien bewegen sich wie einzelne Bacillen. Sehr interessant ist die Bewegung der kreuzförmig verbundenen Bacillen. Bei der Bewegung der ganzen Bildung sieht man, daß beide Bacillen sich wie die Achse eines Rades drehen. Dabei durchschreitet der eine Bacillus einen Halbkreis, bleibt dann stehen, und nun durchschreitet der andere Bacillus, der bis jetzt still stand, einen Halbkreis in entgegengesetzter Richtung⁶⁾. Aus dieser Bewegung entsteht die Bewegung der ganzen Bildung. Ich kann nicht mit Sicherheit behaupten, daß diese Kopulationsbildungen wirklich durch die Vereinigung der zwei einzelnen Bacillen entstehen.

2) Eine Kultur von Fäulnisbakterien mit Sporen. Diese Bakterien hatten dieselbe Form wie die Typhusbacillen. Die Sporen dagegen waren sehr hell, lichtbrechend, von oben gesehen, rund⁶⁾, von der Flachseite gesehen, etwas länglich⁷⁾. Bei diesen Bakterien waren besonders viel Kopulationsstadien, die meistens aus kreuzförmig verbundenen und in Hüllen geschlossenen Individuen bestanden⁸⁾. Nicht alle dieser Kopulationsbildungen waren beweglich. Um so ausgesprochener die kreuzförmige Verbindung war und um so heller die gemeinsame kugelförmige Hülle aussah, desto unbeweglicher waren die genannten Bildungen.

3) *Microspira Metschnikoffi*, eine frische Reinkultur. Die Flachseite dieser Bakterien wie auch der Typhusbacillen ist in der Mitte eingeschnürt. Doch sind die beiden Hälften nicht kreisförmig, sondern in entgegengesetzter Richtung gekrümmt⁹⁾. Die Größe dieser Krümmungsecke verändert sich bei der Bewegung der Bakterien. Einmal vergrößert, dann wieder verkleinert sich die Ecke. Dies zeigt, daß der Körper der Bakterien seine Form verändert und die Veränderung entsteht durch die Seitenbewegung der beiden Hälften. Auch die beiden Hälften der Beugungsbüschel liegen nicht immer coaxial, sondern bilden oft eine Ecke¹⁰⁾. Andere Erscheinungen dieser Bakterien (Teilungsstadien, Kopulationsstadien u. s. w.) sind denen des Typhusbacillus gleich. Bei der Anwendung des elektrischen Bogenlichtes sowie des Heliostatlichtes konnte ich die Geißeln nicht konstatieren.

- 1) Fig. 3 e.
- 2) Fig. 3 f.
- 3) Fig. 3 g.
- 4) Fig. 3 h.
- 5) Fig. 3 i.
- 6) Fig. 5 c.
- 7) Fig. 5 d.
- 8) Fig. Fig. 5 a, b.
- 9) Fig. 4 a.
- 10) Fig. 4 b.

4) *Microspira Comma*, ein Dauerpräparat mit schön sichtbaren Geißeln¹⁾. Die Form des Cholerabacillus ist fast dieselbe wie die der *Microspira Metschnikoffi*. Doch die Doppelförmigkeit der flachen Seite sieht nicht so klar aus, was vielleicht davon kommt, daß die Bakterien gefärbt sind. Bei der Anwendung des Heliostatlichtes sind die Geißeln immer zu sehen. Bei der Anwendung des elektrischen Bogenlichts dagegen nur manchmal, wahrscheinlich nur bei sehr günstiger Beleuchtung. Die Geißeln erscheinen außerordentlich breit und aus einzelnen Teilen bestehend. Das letztere hängt vielleicht nicht von der Substanz der Geißeln ab, sondern von den Stoffen, mit denen die ersteren behandelt wurden.

5) Die Bakterien aus der Myxomycetenkultur. Bei den Kulturen der Myxomyceten in Kohlblätterdekot entwickeln sich in großer Masse die Bakterien, die im Leben der Myxomyceten eine große Rolle spielen. Die Form dieser Bakterien ist der der Typhusbacillen und der Mikrospiren ähnlich. Aber sie unterscheiden sich dadurch, daß die Geißeln schon im lebenden Zustande und sogar bei Anwendung des elektrischen Bogenlichtes schön sichtbar sind. Die Sichtbarmachung der Geißeln der Bakterien im lebenden Zustande gestattet, die Bewegungen der letzteren genauer zu untersuchen. Die Geißeln sind manchmal polar, manchmal den verschiedensten Teilen des Körpers entsprungen. Bei der rotierenden Bewegung der Bakterien auf der Achse des Körpers sieht man, daß sich die Bakterien mit einer unbeweglichen Geißel auf der Oberfläche des Glases oder anderer im Präparat befindlichen Substanzen festkleben und mit Hilfe der anderen Geißeln sich bewegen²⁾. Auch bei der freien Vorwärtsbewegung eines Individuums bleibt eine Geißel unbeweglich und spielt wahrscheinlich die Rolle eines Steuers³⁾. Alles dies zeigt, daß die Bewegung der Bakterien der Bewegung der Flagellaten ähnlich ist, die sich auch bei der rotierenden Bewegung mit einer Geißel festkleben oder auch manchmal (z. B. Bodo) eine Geißel als Steuer benutzen. Die Geißeln dieser Bakterien erscheinen dünn und aus amikroskopischen Teilchen bestehend.

Auch bei diesen Bakterien war sehr klar zu sehen, daß deren Körper fähig ist, seine Form stark zu ändern. Diese Veränderung kommt nicht nur nach der bei *Microspira Metschnikoffi* beschriebenen Weise vor, sondern entsteht auch durch Biegen und Krümmen des Körpers. Einmal sah ich, wie zwei Individuen in solch einem bogenförmig gekrümmten Zustande ein Kopulationsstadium bildeten⁴⁾. Weiter habe ich bemerkt, daß zwei im fadenförmigen Teilungsstadium befindliche Individuen sich zusammenklappten⁵⁾. Die anderen Bakterien aus derselben Kultur erschienen als längliche cylindrische Fäden und zeigten keine Doppelförmigkeit⁶⁾.

6) Die ultramikroskopischen Bakterien. Es genügt, in einen Tropfen ganz optisch leeres destilliertes Wasser ein lebendes Objekt (Algen, Flagellaten, Pilzzellen, Pflanzengewebeschnitte u. s. w.) zu legen, um die ultramikroskopischen Wesen zu sehen. Diese ultramikroskopischen Wesen gehen gleich ins Wasser oder sie befinden sich inner-

1) Fig. 1 a, b, c, d. Dieselben Individuen, ultramikroskopisch betrachtet, sind in Fig. 2 a, b, c, d abgebildet.

2) Fig. 6 b.

3) Fig. 6 a.

4) Fig. 6 c.

5) Fig. 6 d.

6) Fig. 9.

halb der Zellen der genannten Körper. Als ultramikroskopisch kann ich gewiß nur solche Organismen bezeichnen, die ich bei der Dunkelfeldbeleuchtung gesehen habe, bei der gewöhnlichen Beleuchtung mit Hilfe der stärksten Vergrößerung (Zeissches Oelimmersionssystem 2 mm, Komp.-Ok. 18,2250-fache Vergrößerung), die mir zur Verfügung stand, aber nicht konstatieren konnte. Meistens hatten diese ultramikroskopischen Wesen die schon oben beschriebene Form (Doppelförmigkeit der flachen Seite und typischem Beugungsbüschel). Wenn sogar diese Wesen sich nicht im Focus befanden, so zeigten doch die schönen Beugungsbüschel das Vorhandensein der ersteren. Sie sind auch stets beweglich. Daraus schließe ich, daß die Mehrzahl der ultramikroskopischen Organismen zu den Bakterien gehört und eine ähnliche Form hat, wie die mikroskopischen Bacillen und die Mikrospiren. Die anderen ultramikroskopischen Wesen sind faden- oder stabförmig, beweglich oder unbeweglich und ähneln vollständig den ebenso aussehenden langen Bakterien¹⁾ aus der Myxomycetenkultur.

7) Die Ultramikroorganismen. Außer diesen ultramikroskopischen Bakterien waren noch einige ganz andere bewegliche ultramikroskopische Wesen vorhanden. Einige²⁾ ähneln den kugeligen Flagellatenkolonien, z. B. Volvox. Sehr interessante Ultramikroorganismen sah ich in einem Präparat, worin sich die Nixtella-Zellen befanden. Im ruhigen Zustande hatten diese, aus mehreren kleinsten Teilchen bestehenden Wesen eine rundliche Form³⁾. Plötzlich verlängerten sich diese rundlichen Teilchen und der ganze Kreis rollte sich in eine Spirale auf⁴⁾, worauf diese wieder in einen Kreis zurücksprang. Die ganze Erscheinung ähnelte dem Aufrollen und dem Zusammenspringen einer Springfeder. Dieses Ausrollen und Zusammenspringen erfolgte außerordentlich schnell nacheinander. Von den Bakterien unterscheiden sich diese Organismen im ersten Augenblicke dadurch, daß der Zellinhalt dieser Wesen zu sehen war. Ganz anders ist es bei den Bakterien, sowie auch bei den Pilzen, bei denen die Membran selbst stark leuchtend und ultramikroskopisch gebaut ist und deswegen nicht gestattet, den Zellinhalt zu sehen. Dagegen ist die Membran der assimilierenden Pflanzen optisch leer und gestattet, den Zellinhalt zu untersuchen⁵⁾. Die letztere ist gewiß auch sehr schön sichtbar bei allen nackten Protisten.

Wenn es auch bekannt ist, daß wir bei den mikroskopischen Untersuchungen nicht die sehr kleinen Objekte selbst, sondern nur ihre Beugungsscheibchen sehen können, so gestatten die oben geschilderten Tatsachen doch, daraus einige Schlüsse über die Morphologie der Bakterien zu ziehen.

1) Die Körper der zu der Gattung Bacillus und Microspira, vielleicht auch zu anderen Gattungen gehörenden Bakterien bestehen aus zwei symmetrischen Teilen. Wenn auch die geschilderte Doppelförmigkeit als eine optisch ultramikroskopische Erscheinung angesehen werden kann, so zeigt der oben besprochene Beugungsbüschel doch, daß der Körper der Bakterien in der Mitte anders gebaut zu sein

1) Fig. 9.

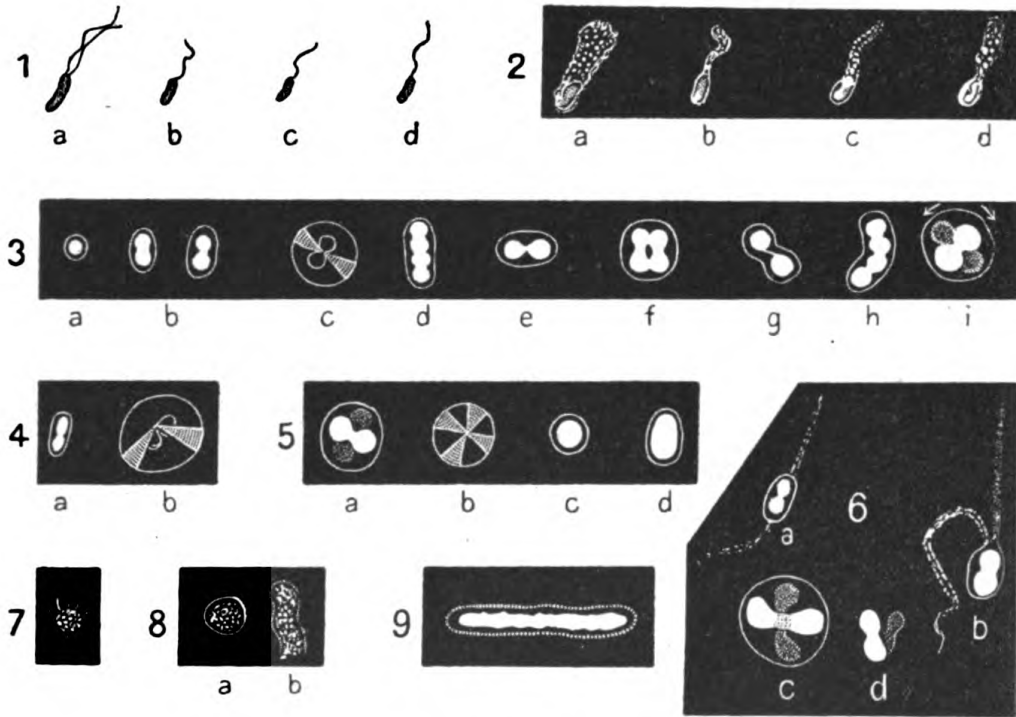
2) Fig. 7.

3) Fig. 8 a.

4) Fig. 8 b.

5) Die biologische Erklärung dieser Tatsache siehe Gaidukov, Weitere Untersuchungen mit Hilfe des Ultramikroskopes nach Siedentopf. (Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. XXIV. 1906. Heft 3.)

scheint, als an den Rändern. Die regelmäßigen, cylindrischen, rundlichen u. s. w. Körper zeigen ultramikroskopisch nur die regelmäßigen Beugungsringe, aber nie solche Beugungsbüschel. Bei dem aus zwei symmetrischen Hälften bestehenden Cosmarium dagegen habe ich ähnliche, gewiß viel größere Büschel gesehen. Die Aehnlichkeit der Bakterien mit den Desmidiaceen habe ich schon früher berücksichtigt. Der Unterschied dagegen besteht darin, daß der Körper der Bakterien fähig ist, seine Form zu verändern. Es scheint, daß diese Gestaltveränderung (Seitenziehen, Zusammenklappen u. s. w.) von der Substanz abhängt, die sich in der Mitte des Körpers befindet. Diese Substanz scheint sehr



Erklärung der Abbildungen¹⁾.

Fig. 1 a, b, c, d. *Microspira Comma* bei gewöhnlicher Beleuchtung.

Fig. 2 a, b, c, d. Dasselbe bei Dunkelfeldbeleuchtung.

Fig. 3. *Bacillus typhi*, a) von oben gesehen, b) von der Flachseite gesehen, c) Beugungsbüschel und Beugungsring, d) Teilungsstadium, e) Kopulationsstadium von oben gesehen, f) Kopulationsstadium von der Flachseite gesehen, g) Kopulationsstadium beim Auseinandergehen von oben gesehen, h) Kopulationsstadium beim Auseinandergehen von der Flachseite gesehen, i) kreuzförmige Kopulation.

Fig. 4. *Microspiro Metschnikoffi*, a) von der Flachseite gesehen, b) Beugungsbüschel und Beugungsring.

Fig. 5. Die sporenbildenden Bakterien, a) kreuzförmige Kopulation, b) Beugungsbüschel derselben, c) Spore von oben gesehen, d) Spore von der Flachseite gesehen.

Fig. 6. Bakterien aus der *Myxomyceten*kultur, a), b) Individuen mit Geißeln, c) Kopulation, d) Zusammengeklapptes Teilungsstadium.

Fig. 7. Kugeliger Ultramikroorganismus.

Fig. 8. Springfederförmiger Ultramikroorganismus, a) zusammengerollt, b) ausgerollt.

Fig. 9. Fadenförmige Bakterie.

1) Fig. 1, 2 und 7 sind mit Hilfe des Zeichenapparates nach Abbe (Oelimmers. 2 mm Komp. Ok. 18) gezeichnet, die anderen nach den in der beschriebenen Weise gezeichneten Originalen, vergrößert.

elastisch zu sein. Die beschriebene Eigentümlichkeit des Körperbaues der Bacillen, Microspiren u. s. w., nämlich daß dieselben aus zwei Hälften bestehen, nenne ich die Doppelförmigkeit oder die Diatomität der Bakterien.

2) Die Ursachen, sowie auch die Folgen der von mir beschriebenen Kopulationsstadien der Bakterien sind noch unklar. Ich habe schon früher gesagt, daß die in den Teilungsstadien befindlichen Bakterien sich zusammenklappten¹⁾ und in dieser Weise ein Kopulationsstadium bildeten. Dessenungeachtet ist der beschriebene Vorgang so typisch, daß ich denselben als Kopulation der Bakterien bezeichne. Ob diese Kopulation ein Befruchtungsprozeß ist, kann man nicht gewiß sagen. Nur die sehr häufigen und typischen Kopulationsstadien²⁾, die ich bei den sporenbildenden Bakterien gesehen habe, machen in dieser Weise eine Andeutung. Uebrigens genügt auch diese Tatsache nicht, um aus diesem Vorgange einen Befruchtungsprozeß festzustellen.

3) Die ultramikroskopischen Wesen gehören meistens zu den Bakterien, wahrscheinlich zu den Gattungen *Bacillus* und *Microspira*. Außer diesen ultramikroskopischen Bakterien sind aber noch ganz andere ultramikroskopische Wesen vorhanden, die gar nicht zu den Bakterien gehören und die ich Ultramikroorganismen nenne.

4) Im großen und ganzen stimmen diese Untersuchungen mit den von Prof. Rählmann (l. c.) gemachten überein. Die Diatomität der Bakterien bestätigt auch die von C. Siebert gemachten ultramikroskopischen Bakterienphotogramme (l. c.).

Diese Untersuchungen wurden im Hygienischen Institut der Universität Jena ausgeführt, und es ist mir eine angenehme Pflicht, dem Direktor dieses Institutes, Herrn Prof. Dr. Aug. Gärtner, für gütige Ueberlassung der Apparate und des Materials meinen besten Dank auszusprechen.

Jena, den 28. April 1906.

1) Fig. 6 d.

2) Fig. 5 a.

Inhalt.

Fuhrmann, Franz, Der feinere Bau der Saccharomycetenzelle, p. 629.

Gaidukov, N., Ueber die ultramikroskopische Untersuchung der Bakterien und über die Ultramikroorganismen, p. 667.

Gruber, Th., Die beweglichen und unbeweglichen aëroben Gärungserreger in der Milch, p. 654.

Heinze, Berthold, Einige Beiträge zur mikrobiologischen Bodenkunde, p. 640.

Malkoff, Konstantin, Weitere Untersuchungen über die Bakterienkrankheit auf *Sesamum orientale*, p. 664.

Rahn, Otto, Ueber den Einfluß der Stoffwechselprodukte auf das Wachstum der Bakterien. (Schluß), p. 609.

Swellengrebel, N. H., Zur Kenntnis der Cytologie von *Bacillus maximus buccalis* (Miller), p. 617.

Nachdruck verboten.

Zur Kenntnis der Cytologie von *Bacillus maximus buccalis*
(Miller).

Von N. H. Swellengrebel, Amsterdam.

Mit 1 Tafel.

(Schluß.)

Zum Beweise, daß die Körnchen kein Volutin darstellen, wurden folgende, A. Meyers Praktikum (28) entnommene Reaktionen angestellt, wobei auch das Verhalten der Kerne, der zwischen den Bakterien gelegenen Epithelzellen und polynukleären Leukocyten beobachtet wurde.

1) Die Körnchen wurden mit Methylenblau (1 + 10) gefärbt und mit 10-proz. Schwefelsäure behandelt, die Körnchen entfärbten sich sofort, oder kürzere Zeit nachher. Die Kerne verhielten sich ebenso. Unter denselben Umständen bleibt das Volutin gefärbt.

2) Die Körnchen wurden mit Methylenblau (1 + 10) gefärbt und mit 5-proz. Natriumcarbonat behandelt. Es trat keine Entfärbung ein, weder bei den Körnchen, noch bei den Kernen, nur bekamen sie einen rötlichen Schimmer. Nach 2½ Stunden waren beide aber entfärbt. Volutin wird sofort entfärbt.

3) Nach Färbung mit Methylenblau (1 + 10) wurden die Körnchen mit Jodjodkaliumlösung behandelt, die Körnchen wurden dunkelblau gefärbt. Nach dem Absaugen des Jodjodkaliums wurde Natriumcarbonat zugesetzt, das Plasma wurde dunkelblau, später etwas heller, die Körnchen bleiben gefärbt. Volutin entfärbt sich.

4) Die Körnchen wurden mit Ziehlschem Karbolfuchsin 5 Minuten gefärbt, nach Durchspülung wurde 1-proz. Schwefelsäure hinzugesetzt, worauf sowohl Zytoplasma als Körnchen sofort entfärbt wurden. Volutin bleibt gefärbt.

5) Material, das an einem Deckgläschen angetrocknet war, wurde während 5 Minuten in siedendem Wasser belassen. Nachher waren die Körnchen mit Methylenblau (1 + 10), besser mit Heidenhainschem Eisenhamatoxylin, nachzuweisen. Diese Reaktion ist ebenso wie die folgende darum schwierig, weil durch die Behandlung starke Verzerrungen auftreten, welche den Nachweis der Körnchen erschweren. Darum ist es besser, bei der Nachweisung der Körnchen sich der zwar umständlicheren, aber sicheren Heidenhainfärbung zu bedienen und nicht der Methylenblaufärbung. Man könnte diese unangenehme Nebenwirkung so umgehen, daß man mit Formol etc. fixiertes Material benutzte; dann würde die Reaktion aber nicht mehr einwandfrei sein, da, wie Meyer (29) dieses zeigte, Volutin durch Fixierung an Löslichkeit einbüßt.

6) Angetrocknetes Material wurde mit 5-proz. Schwefelsäure behandelt. Nach 3 Stunden waren die Körnchen trotz der Verzerrungen mit Heidenhainschem Hämatoxylin nachzuweisen. Volutin wird völlig gelöst. Dieselben Resultate wurden mit Salzsäure erhalten.

Aus diesen Reaktionen geht hervor, daß die Körnchen weder aus Fett, noch aus Volutin bestehen. Ich habe weiter einige Reaktionen

vorgenommen, um die Chromatinnatur der Körnchen etwas näher zu begründen. Bekanntlich gibt es bis jetzt noch keine eindeutigen chemischen Reaktionen auf das Chromatin. Frank Schwarz (43) hat seinerseits eine Reihe Reaktionen angegeben, mit welchen man die verschiedenen, die Zellkerne konstituierenden Teile voneinander und vom Zytoplasma unterscheiden könne. Diese Reaktionen sind aber nach der eingehenden Darlegung Zimmermanns (58) ganz unzuverlässig. Doch hat Wahrlich (47), der als erster die in den Bakterienzellen gefundenen Körnchen chemisch untersucht hat, diese Reaktionen eifrig benutzt. Ihm zufolge kann man sich nur durch successives Herauslösen der verschiedenen Bestandteile über die Zusammensetzung des Bakterienleibes klar werden. Inwieweit dieses successive Herauslösen für die von ihm untersuchten Bakterien möglich ist, kann ich natürlich nicht beurteilen; daß es für *B. maximus* unmöglich ist, geht schon aus der Tatsache hervor, daß Säuren solche Verzerrungen hervorrufen, daß die ungelöst zurückbleibenden Teile ihre ursprüngliche Struktur ganz verlieren.

Später hat Migula (30) die von Wahrlich benutzten Reaktionen auf die Körnchen des *B. oxalaticus* angewendet.

Außer Frank Schwarz hat sich zumal Zacharias (53—56) eingehend mit der chemischen Zusammensetzung des Kernes befaßt und hat auf Grund umfassender makro- und mikrochemischer Untersuchungen eine Reihe Reaktionen aufgestellt, die, wenn sie auch nicht als Reaktionen auf Chromatin gelten können, dieses wohl auf Nuklein sind. Ich habe die von Zacharias angegebenen Reaktionen an den Körnchen ausgeführt und außerdem noch eine der Schwarzschen Reaktionen, die aber negativ ausfiel.

1) Einwirkung von Pepsinsalzsäure. Es wurde benutzt: Pepsin-Langenbeck 0,1, Acid. mur. dil. 2, Aq. dest. 5. In diese Lösung wurden die Bacillen entweder frisch oder auf einem Deckgläschen angetrocknet eingebracht. Es wurden drei Versuchsserien angestellt, einmal wurden die Bakterien 12 Stunden bei 40° und 11 Stunden bei Zimmertemperatur belassen, ein anderes Mal 18 Stunden bei 40° und 12 Stunden bei Zimmertemperatur und ein drittes Mal 24 Stunden bei 40° und 26 Stunden bei Zimmertemperatur. Nachher wurden sie mit Methylenblau (1 + 10) oder (was der von der Salzsäure herrührenden Verzerrungen wegen zu bevorzugen ist) mit Heidenhainschem Eisenhämatoxylin gefärbt. Bei dieser Behandlung wurden weder die Körnchen noch die Querschnitte gelöst. Außer der enzymatischen Kontraktion war überhaupt nur wenig an den Zellen geändert. Das Plasma der Epithelzellen war bis auf einige zusammengeschrumpfte Fetzen vollständig gelöst. Die enzymatische Kontraktion war bei den Beobachtungen ziemlich hindernd, doch war sie nicht durch vorhergehendes Fixieren zu vermeiden, da, wie ich dieses unten zeigen werde, diese Behandlung die Körnchen weniger löslich macht.

2) Behandelt man die Zellen 2½—7 Stunden mit 1 Proz. Kalilauge, so lösen die Körnchen und Querschnitte sich vollständig. Die Zellen werden durch diese Behandlung mit Methylenblau (1 + 10) schwer färbbar; nach längerem Färben nahmen die Zellen einen hellblauen Ton an, welcher von der gefärbten Zellwand herrührte, mit hier und da einigen dunkelblauen Fetzen, die ungelösten Ueberreste des Zellinhaltes.

3) Die Einwirkung der 0,2-proz. Salzsäure wurde schon bei der Besprechung der Volutinreaktionen beschrieben. Es sei hier noch hinzugefügt, daß irgendwelches Glänzendwerden der Körnchen, wie Zacha-

rias dieses für Nuklein als charakteristisch beschreibt, nicht zu beobachten war. Doch messe ich diesem negativen Resultat keine Bedeutung bei, da der ganze Zelleib sehr lichtbrechend und also glänzend ist; die Körnchen hätten wohl sehr glänzend sein müssen, hätte man sie von dem übrigen Cytoplasma unterscheiden können.

4) Mäßig verdünnte Salzsäure (4 vol HCl : 3 vol H₂O) löst die Körnchen und Querfäden heraus. Die Lösung ist nach 3 Stunden keine vollständige. Die Körnchen und Querfäden sind in vielen Zellen noch zu sehen, haben aber an Färbungsfähigkeit eingebüßt. Dieses rührt wohl davon her, daß die Spirale nicht nur aus Chromatin, sondern auch aus Plastin besteht. Salzsäure scheint die Struktur der ungelöst zurückbleibenden Teile weniger zu zerstören als Kalilauge, denn nach Einwirkung dieses letzteren Stoffes war von organisierten Ueberresten nichts mehr zu erblicken. Wurden die Präparate erst in Formol (40 Proz.) fixiert und nachher der Einwirkung des HCl ausgesetzt, dann stellte es sich heraus, daß die Körnchen in den meisten Zellen sichtbar blieben, selbst nach einer Einwirkung von 48 Stunden. Fixierung setzt also die Löslichkeit der Körnchen herab.

5) Starke Salzsäure löst alles aus den Zellen heraus, nur die zusammengefallene Zellwand bleibt wie ein schwer färbbares, wenig lichtbrechendes, dünnes Häutchen zurück.

6) In konzentriertem Natriumcarbonat werden die Körnchen und Querfäden gelöst. Bei darauffolgender Methylenblaufärbung wird die Zelle violett gefärbt, wobei die Querwände deutlich hervortreten.

7) Behandelt man angetrocknetes Material während 24 Stunden mit 10-proz. Kochsalzlösung, so werden die Körnchen vollständig gelöst, ebenso die Querfäden. Dabei wird das Protoplasma stark kontrahiert und legt sich in Form unregelmäßiger Häufchen und Schollen der Zellwand an. Dadurch kommt es, daß man bei dieser Reaktion sich leicht täuscht und die kontrahierten Plasmareste für Körnchen ansieht. Von diesen sind sie aber leicht zu unterscheiden durch ihre Größe, welche jene der Körnchen um das Doppelte übertrifft, durch den völligen Mangel der Querfäden und durch ihr Verhalten der Romanowskifärbung gegenüber, wobei sie sich blau statt rot färben (Fig. 20).

8) Eine konzentrierte Lösung von Magnesiumsulfat greift die Querfäden und Körnchen selbst nach längerer Einwirkung nicht an. Ich habe diese Reaktion nur darum angestellt, weil sie schon früher als Reaktion auf die körnigen Einschlüsse des Bakterienleibes von Wahrlich und Migula benutzt wurden und auch Fischer sie anführt (15). Dem negativen Ausfall ist kein großes Gewicht beizulegen, wie Zimmermann gezeigt hat.

9) Jod färbt die Körnchen braun. Die gleichzeitig auftretende Iogenreaktion ist dabei sehr hinderlich. Doch kann man hier und da deutlich sehen, daß die Körnchen sich braun gefärbt haben.

10) Mit Methylgrün war es sehr schwierig, Färbung der Körnchen zu erzielen, so daß es nur selten gelang, eine gute Tinktion zu erhalten. Fischer und Migula führen gegen die Kernnatur der in den Bakterien gefundenen Chromatinkörnchen an, daß sie sich mit Methylgrün nicht färben. Dieser Satz trifft also für die Körnchen des *Bac. maximus* nicht zu. Ueberhaupt möchte ich der Färbung mit Methylgrün als Kernreaktion keineswegs großen Wert beimessen, man hat ja echte Kerne gefunden, welche sich mit diesem Farbstoff nicht tingieren.

Wie aus der Beschreibung dieser Reaktionen ersichtlich, verhalten

die Körnchen sich den verschiedenen Reagentien gegenüber im wesentlichen als echtes Chromatin. Auch die Querfäden scheinen so zu reagieren. Doch glaube ich, daß dieses nur Schein ist und daß sie in Wirklichkeit aus platinartiger Substanz aufgebaut sind. Bei der Einwirkung von Kalilauge und Salzsäure wird aber die chromatische Substanz ausgelaut und werden die Querbänder darum (und auch der teilweisen Zerstörung der Struktur wegen) unsichtbar.

Endlich möchte ich noch darauf hinweisen, daß das Cytoplasma des *Bac. maximus* aus einer Säuren und Enzymen gegenüber ziemlich resistenten, dem Zachariasschen Platin wohl nahestehenden Substanz aufgebaut ist. Stellt man an diesem Bacillus die Zachariassche Eiweißprobe an, d. h. beläßt man sie während einer Stunde in einem Gemische von 1 Vol. Ferrocyankali (10 Proz.) und 2 Vol. Eisessig (50 Proz.), spült sie dann erst in Wasser, dann in Alkohol (60 Proz.) aus und untersucht in einer verdünnten Eisenchloridlösung, so erscheinen die Bakterien farblos und die Körnchen gelöst, ebenso wie die Kerne der Epithelzellen, deren Cytoplasma einen bläulichen Ton angenommen hat (was mit der Löslichkeit in Pepsin-Salzsäure übereinstimmt). Man ist also wohl berechtigt anzunehmen, daß es von Pepsin-Salzsäure angreifbares, bei der Eiweißprobe sich bläuendes Eiweiß in den Zellen von *Bac. maximus* nicht gibt.

V. Zusammenfassung und Deutung.

Das in den vorigen Zeilen beschriebene Spiralband mit seinen Körnern möchte ich als ein den Kernen höheren Pflanzen und Tieren homologes Gebilde auffassen; meine Gründe zu dieser Annahme sind folgende:

1) Das Spiralband zeigt keine der Reaktionen, welche die bis jetzt in den Bakterienleibern bekannten Reserveprodukte aufweisen; hierzu kommt noch, daß die eigentümliche Form nicht für die Reservestoffnatur spricht.

2) Das Spiralband nähert sich in seinem chemischen Verhalten den Nukleinkörpern.

3) Man kann mit guten Färbungs- und Fixierungsmethoden das Spiralband in jeder Zelle nachweisen, jedenfalls ist keine Anzeige vorhanden, daß das sich Nichtzeigen des Fadens in manchen Zellen auf etwas anderes als auf schlechter Entfärbung beruht.

4) Der Körnerfaden kann zu jeder Zeit herausdifferenziert werden; sowohl in jüngeren wie in älteren Zellen, in Stadien lebhafter Vermehrung und in jenen des Zurückganges der Entwicklung (wenn auch im letzteren nicht so allgemein) war er zu finden; dieses spricht auch nicht für die Annahme, die Spirale sei Reservestoff, wohl aber für die Kernnatur.

5) Der eigentümliche Teilungsmodus, durch welchen offenbar erzielt wird, daß jeder Teil des Fadens in zwei Teile zerfällt, von welchen jede Hälfte einer Tochterzelle zugute kommt, deutet auch auf die Kernnatur hin, nicht aber auf die Zusammensetzung aus Reservestoff. Auf die Färbungsreaktionen lege ich kein Gewicht, auch nicht auf die positiv ausfallende *Romanowski*- und *Methylgrün*färbung; die diesbezügliche Literatur mahnt einen in dieser Beziehung zur Vorsicht.

Ich bin mir sehr wohl bewußt, daß die angeführten Gründe keinen absoluten Beweis für die Kernnatur des Körnerfadens geben können; sie können diese Annahme nur wahrscheinlich machen. Da aber dieselben

Gründe es sehr unwahrscheinlich machen, daß die Spirale ein Reserveprodukt darstellt, weiter, soviel ich ersehen kann, nichts gegen die Kernnatur spricht und auch kein Grund vorliegt, die Zelle des *Bac. maximus* als kernlos hinzustellen, glaube ich berechtigt zu sein, das Gebilde als einem dem Kerne homologes zu deuten.

Es bleibt jetzt die Frage zu beantworten, wie man sich diese Homologie denken muß.

Wenn man dazu die erhaltenen Ergebnisse noch einmal rekapituliert, dann ersieht man, daß der Kernapparat aus einem chromatischen Spiralfaden aufgebaut ist, welcher im Ruhestadium homogen erscheint und vor der Teilung sich in die achromatischen Querfäden und in die Chromatinkörnchen differenziert. Hiernach erfolgt die Längsteilung der Körnchen und Querfäden, welche stark an jene der Chromosomen erinnert, der Kerne höherer Organismen. Doch zögere ich, das Spiralband mit einem Chromosom zu homologisieren, denn abgesehen von der Längsteilung, sind keine homologen Verhältnisse aufzufinden. Bei der Teilung eines Chromosoms rücken die Chromatinkörnchen, durch Verkürzung der Lininfäden nacheinander zu, um nach Beendigung der Teilung, wenn der Kern in das Spiremstadium übergeht, wieder auseinander zu rücken. Beim Spiralband des *Bac. maximus* ist die Sache gerade das Umgekehrte. Hier ist im Ruhestadium allem Anschein nach das Chromatin innig mit den achromatischen Bestandteilen des Bandes vermischt, bei der Teilung rücken diese Komponenten auseinander. Darum glaube ich, nicht berechtigt zu sein, das Spiralband mit einem Chromosom zu homologisieren, abgesehen noch davon, daß man theoretisch vieles gegen die Annahme eines einzigen Chromosoms einwenden könnte' mit Rücksicht auf eventuelle Reduktionsteilungen.

Man könnte weiter versuchen, den Spiralkern mit dem Chromidialnetze Hertwigs zu identifizieren. Tatsächlich hat der Kernapparat des *Bac. maximus* viele Aehnlichkeit mit jenem des *Opalinopsis Sepiolae* [Gonner (64)] und der *Foettingeria actiniarum* [Caulley et Mesnil (65)]. Bei beiden Organismen sind die Chromidien jedenfalls in einigen Stadien der Entwicklung untereinander zu einem richtigen Netze verbunden. Andererseits kommen aber auch Stadien vor, in welchen die Chromidien sich ganz voneinander losgelöst haben. Die Teilung erfolgt durch einfache Durchschnürung, eine direkte Folge der Zellteilung. Diese zwei Unterschiede, zumal der letztere, machen eine Homologisierung des Spiralbandes mit einem solchen Chromidialnetze, wie *Opalinopsis* und *Foettingeria* es besitzen, unmöglich, auch darum, weil der Faden sich niemals zu einem kompakten Kern kondensiert.

Doch glaube ich, daß dieses Kernderivat noch die meiste Uebereinstimmung mit dem Spiralbande des *Bac. maximus* bietet. Die Unterschiede der Struktur sind meistens nur quantitativen und keine qualitativen. Bei *Opalinopsis* und *Foettingeria* sind die Chromidien, wie schon gesagt, bisweilen untereinander verbunden. Dieses kann man auch von *Bac. maximus* sagen (wenn man die Körnchen als Chromidien auffaßt). Diese Verbindung kann dünn und chromätinarm sein, wie bei *Opalinopsis* oder viel dicker wie bei *Foettingeria*. Dieselben Uebergänge findet man auch bei *Bac. maximus*. Das Chromatin kann sich einerseits ganz in den Körnchen zusammengezogen haben, andererseits kann soviel Chromatin den Querfäden zugute gekommen sein, daß zwischen diesen und den Körnchen kein Unterschied mehr zu bemerken ist. Soviel aus den Abbildungen zu ersehen ist, kommt dieser extreme

Fall nicht bei *Opalinopsis* und *Foettingeria* vor, wohl aber jene, welche erstgenanntem diametral gegenübersteht, nämlich der Fall, daß die Querfäden immer dünner werden, um zuletzt zu verschwinden. Dieser Fall kommt bei *Bac. maximus* nicht vor, doch ist es klar, daß diesem Unterschiede keine prinzipielle Bedeutung zukommt und für sich eine Homologisierung des Kernapparates des *Bac. maximus* und von *Opalinopsis* nicht verhindern kann. Anders liegt es aber mit der Teilung. Hier herrscht ein Unterschied, der ebenso groß ist als jener zwischen einer mitotischen und amitotischen Teilung, denn tatsächlich kann man die Teilung des Kernbandes des *Bac. maximus* mit einer mitotischen Teilung vergleichen, indem die einfache Durchschnürung des Kernes von *Opalinopsis* einer Amitose gleichzusetzen ist. Alles in allem möchte ich die Kernspirale des *Bac. maximus* unter die Gruppe der „diffusen Kerne“ unterbringen, mit der Bemerkung, daß hier ein diffuser Kern mit mitotischer Teilung vorliegt, indem die bis jetzt beschriebenen diffusen Kerne alle amitotische Teilung aufweisen. Der Grund, warum ich die Teilung des Spiralkernes als eine mitotische auffasse, ist folgender: Das Wesentliche der mitotischen Teilung ist m. E. die Längsteilung der Chromosomen mit nachfolgendem Auseinanderrücken derselben, wodurch es ermöglicht wird, daß von jedem Chromatinkorn jede Hälfte einer der Tochterzellen zugute kommt. Dieses ist bei der amitotischen Teilung durch die einfache Durchschnürung nicht gesichert. Ueberträgt man dieses Prinzip auf die diffusen Kerne, so ist es ohne weiteres klar, daß man die Teilung der Spirale prinzipiell als eine mitotische ansehen muß, denn obwohl hier keine Chromosome oder eines der gebräuchlichen Attribute der Karyokinese wie Kernspindel u. s. w. vorliegen, so ist doch die Folge dieselbe, nämlich: gleichmäßige Verteilung der Kernsubstanz über den beiden Tochterzellen. Aus dieser Deutung des Kernspirals geht hervor, daß die Körnchen als Chromidien aufzufassen sind. Es wird also bei *Bac. maximus* die Vermutung Mesnils (22), die Körnchen in den Bakterien seien vielleicht untereinander zu einem Netze verbunden, bestätigt (obwohl hier kein eigentliches Netz vorliegt, sondern ein Faden, was aber keinen prinzipiellen Unterschied bedingt).

In neuester Zeit hat Perrin (35) die feinere Struktur des *Trypanosoma balbianii* beschrieben und hat dabei einen Kern aufgefunden, welcher mit jenem des *Bac. maximus* eine wirklich überraschende Ähnlichkeit zeigt. Auch hier hat man einen Spiralfaden, welcher sich abwechselnd ohne oder mit Körnchen darbietet; der erste Fall stellt ein Ruhestadium dar, der zweite einen Anfang zur Teilung. Hiermit hört bei oberflächlicher Betrachtung die Uebereinstimmung aber auf, denn die Teilung ist eine viel kompliziertere, das Körnerband zerfällt in Körnchen (Chromosomen), welche sich teilen, worauf die Längsteilung der Zellen erfolgt. Die Gesamtheit der Querfäden wird von Perrin als Karyosom gedeutet, welches bei der Encystierung in einen chromatischen und achromatischen Teil zerfällt. Ich vermag natürlich über die Deutung Perrins keine Kritik zu üben, weil ich den betreffenden Organismus selbst niemals untersucht habe. Ausdrücklich möchte ich aber auf die große Uebereinstimmung der Kernstrukturen beider Organismen hinweisen. Selbst die Teilung ist m. E. nicht so sehr von jener des Kernspirals des *Bac. maximus* verschieden, wie man a priori anzunehmen geneigt sein würde. Der ganze Unterschied besteht darin, daß bei *Tr. balbianii* die Körnchen vor der Teilung sich voneinander los-

lösen, indem sie bei *Bac. maximus* durch die achromatischen Querfäden verbunden bleiben. Diese Uebereinstimmung kann vielleicht eine nicht unwichtige Stütze bringen für die schon von Fischer, später in anderer Weise von Schaudinn und Prowazek geäußerte Hypothese des genetischen Zusammenhanges der Flagellaten und Bakterien. Unglücklicherweise haben Laveran und Mesnil (66) die Flagellatennatur der *Tr. balbianii* angezweifelt und meinen, sie gehöre unter den Bakterien zu den Spirochäten. Doch harrt diese Frage noch der Lösung.

Wenn man die hier erhaltenen Ergebnisse betrachtet in Verbindung mit jenen bei anderen Bakterien erhaltenen, so kommen hierbei außer den schon erwähnten Arbeiten Mencls, Mitrophanows, Ernsts u. s. w. die Arbeiten Fischers, Meyers und Migulas in Betracht. Diese drei Forscher erwähnen in den Bakterien Körnchen, welche sich in ihrem chemischen Verhalten dem Chromatin nähern. Meyer erklärt sie für Kerne, Migula für Kernderivate, wogegen Fischer ihnen die Kernnatur abspricht. Verbindungen zwischen den Körnchen werden niemals erwähnt. Die von mir bei *Bac. maximus* gefundenen Chromidien zeigen mit den „Chromatinkörnchen“ größte Aehnlichkeit, sie sind aber im Zelleibe regelmäßig verteilt, zeigen Teilungsstadien, sind untereinander verbunden und gehen in Fäden über, was die Chromatinkörnchen sonst nicht tun. Ob man dennoch berechtigt ist, beide Körnerarten zu identifizieren, vermag ich zur Zeit nicht zu entscheiden.

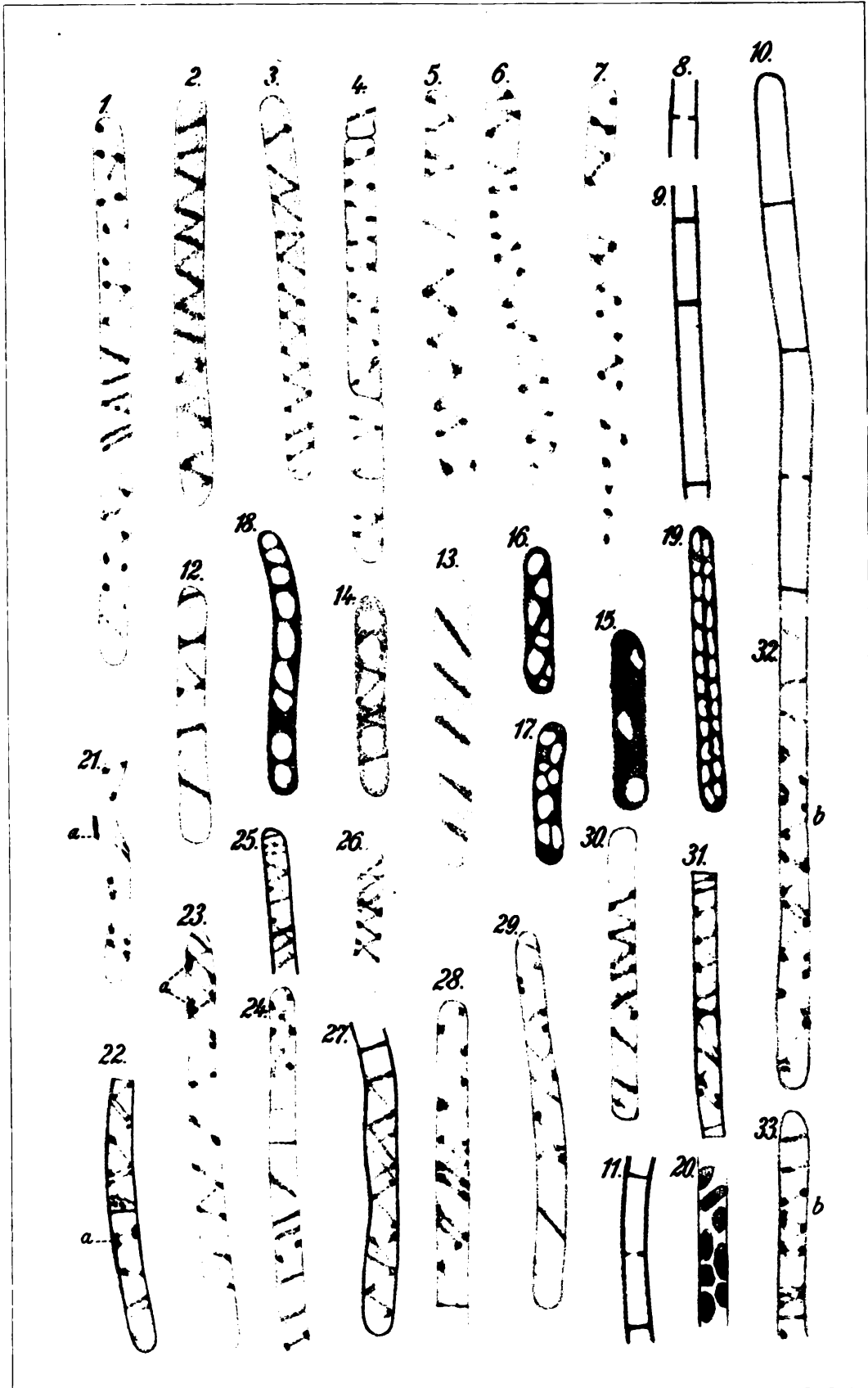
Was die Verbreitung dieses Kernbaues unter den Bakterien anbelangt, so ist darüber bis jetzt nicht viel zu sagen. Außer den gelegentlichen Angaben Mitrophanows, Mencls und Ernsts, die aber niemals näher auf die Sache eingingen, ist bis jetzt, soviel ich weiß, in keiner Arbeit über Bakterienkerne, diese eigentümliche und auffallende Kernstruktur, erwähnt worden, so daß es gefährlich erscheint, die bei *Bac. maximus* gefundenen Ergebnisse ohne weiteres auf die anderen Bakterien zu übertragen.

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. C. Ph. Sluiter und Herrn Privatdozenten Dr. J. Versluys für ihre vielen Unterstützungen meinen besten Dank abzustatten.

Literatur.

- 1) Babes, Ueber isoliert färbbare Anteile in Bakterien. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. V. 1889.)
- 2) —, Beobachtungen über die metachromatischen Körperchen. (Ebenda. Bd. XX. 1895.)
- 3) Bunge, Fortschritte der Medizin. Bd. XII. 1895.
- 4) Bütschli, Ueber den Bau der Cyanophyceen und Bakterien: 1891.
- 5) —, Ueber den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Leipzig 1896.
- 6) —, Ueber den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. (Arch. f. Protistenkunde. Bd. I.)
- 7) Ernst, Ueber den *Bacillus xerosis* und seine Sporenbildung. (Zeitschrift für Hygiene. Bd. IV. 1888.)
- 8) — Ueber Kern- und Sporenbildung in den Bakterien. (Ebenda. Bd. X. 1889.)
- 9) —, Ueber den Bau der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1902.)
- 10) Federowitsch, Ueber die Körnigkeit der Bakterien. (Ebenda. Abt. II. Bd. VIII. 1902.)
- 11) Feinberg, Ueber den Bau der Bakterien. (Ebenda. Abt. I. Bd. XXVII. 1900.)
- 12) Fischer, Alfr., Plasmolyse der Bakterien. (Ber. der kön. Ges. der Wissensch. Math.-phys. Klasse. Sitzung am 2. März 1891.)
- 13) —, Untersuchungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Jena 1897.
- 14) —, Untersuchungen über Bakterien. (Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. XXVII. 1894.)
- 15) —, Vorlesungen über Bakterien. Jena 1903.
- 16) Frenzel, Ueber den Bau und die Sporenbildung grüner Kaulquappenbacillen. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XI. 1891.)
- 17) Gotschlich, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Jena 1903.

- 18) Grimme, Die wichtigsten Methoden der Bakterienfärbung in ihrer Wirkung auf die Membran, den Protoplasten und die Einschlüsse der Bakterienzelle. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Originale. Bd. XXXII. 1902.)
- 19) Guilliermond, A propos de la communication de M. Behring au congrès de la tuberculose. (Lyon médical. 23. Oct. 1905.)
- 20) Hueppe, Die Formen der Bakterien. 1886.
- 21) Klebs, Allgemeine Pathologie. Bd. I. 1887.
- 22) Massart, Sur le protoplasme des Schizophytes. (Recueil de l'Institut Botanique de l'Université de Bruxelles Tome V. 1902.)
- 23) Mencl, Einige Beobachtungen über die Struktur und Sporenbildung bei symbiotischen Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904.)
- 24) —, Cytologisches über die Bakterien der Prager Wasserleitung. (Ebenda. Abt. II. Bd. XV. 1905.)
- 25) Mesnil, Chromidies et question connexes. (Bulletin de l'Institut Pasteur. Tome III. 1905.)
- 26) Meyer, Arthur, Ueber *Astasia asterospora*. (Flora. Bd. LXXXIV, 1897.)
- 27) —, Ueber Geißeln, Reservestoff, Kerne und Sporenbildung der Bakterien. (Flora. Bd. LXXXVI. 1899.)
- 28) —, Praktikum der botanischen Bakterienkunde. Jena 1903.
- 29) —, Ueber die Verbreitung des *Volutins*. (Botanische Zeitung. Bd. LXII. 1904.)
- 30) Migula, System der Bakterien. Bd. I.
- 31) —, Ueber den Zellinhalt des *Bac. oxalaticus*. (Arbeiten aus dem bakt. Institut der Techn. Hochschule zu Karlsruhe. Bd. I. 1894.)
- 32) —, Weitere Untersuchungen über *Astasia asterospora*. (Flora. Bd. LXXXV. 1898.)
- 33) —, Handbuch der Technischen Mykologie. Herausgegeben von F. Lafar. Lieferung I. Jena 1904.
- 34) Mitrophanow, Etudes sur l'organisation des Bactéries. (Internat. Monatsschr. f. Anat. u. Physiol. Bd. X. 1893.)
- 35) Perrin, Life history of *Trypanosoma Balbianii*. (Archiv für Protistenkunde. Bd. VII. 1906.)
- 36) Protopopoff, Sur la question de la structure des Bactéries. (Annales de l'Institut Pasteur. Tome V. 1891.)
- 37) Raymann und Kruis, Des noyaux des Bactéries. (Bull. int. Acad. des sciences de Bohême. 1903.)
- 38) Rowland, Observations upon the structure of Bacteria.
- 39) Schaudinn, Zur Kenntnis der Bakterien und verwandten Organismen *Bac. Bütschli*, Sch. (Archiv für Protistenkunde. Bd. I.)
- 40) —, *Bac. sporenuma*. (Ebenda. Bd. II.)
- 41) Schewiakoff, Ueber einen neuen bakterienähnlichen Organismus des Süßwassers. (Verhandlungen des naturhist.-med. Vereins Heidelberg. Bd. V. 1893.)
- 42) Sjöbring, Ueber Kerne und Teilungen bei den Bakterien. (Centralbl. für Bakt. Abt. I. Bd. XI. 1892.)
- 43) Schwarz, Frank, Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasmas. (Cohns Beiträge. Bd. V. 1887.)
- 44) Trambusti und Galeotti, Neuer Beitrag zum Studium der inneren Struktur der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XI. 1892.)
- 45) Vejdovsky, Bemerkung über den Bau und Entwicklung der Bakterien. (Ebenda. Abt. II. Bd. VI. 1900.)
- 46) —, Ueber den Kern der Bakterien und seine Teilung. (Ebenda. Bd. XI. 1904.)
- 47) Wahrlich, Bakteriologische Studien. (Scripta Botanica. Petersburg 1890—1891.)
- 48) Weigert, Schmidts Jahrbücher. 1887.
- 49) Zettnow, Ueber den Bau der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. X. 1891.)
- 50) —, Ueber den Bau der großen Spirillen. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXIV. 1897.)
- 51) —, Romanowskis Färbung bei Bakterien. (Ebenda. Bd. XXX. 1899.)
- 52) —, Romanowskis Färbung bei Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXVII. 1900.)
- 53) Zacharias, Ueber Eiweiß, Nuclein und Plastin. (Botanische Zeitung. 1883.)
- 54) —, Beiträge zur Kenntnis des Zellkernes und der Sexualzellen. (Ebenda. 1887.)
- 55) —, Ueber die chemische Beschaffenheit des Zellkernes. (Ebenda. 1881.)
- 56) —, Ueber den Zellkern. (Ebenda. 1882.)
- 57) Ziemann, Eine Methode der Doppelfärbung bei Flagellaten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXIV. 1898.)
- 58) Zimmermann, Morphologie und Physiologie des pflanzlichen Zellkernes. Jena. 1896.
- 59) Zukał, Ueber den Zellinhalt der Schizophyten. (Ber. d. d. bot. Ges. Bd. X. 1892.)



N. H. Swellengrebel del.

Verlag von Gustav Fischer, Jena.

P. Weise, Lith., Jena.

- 60) Schottelius, Beobachtungen kernartiger Körper im Innern von Spaltpilzen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. IV. 1888.)
 61) Nakanishi, Ueber den Bau der Bakterien. (Ebenda. Bd. XXX. 1901.)
 62) Miller, Die Mikroorganismen der Mundhöhle. Leipzig 1892.
 63) Günther, Einführung in das Studium der Bakteriologie. Leipzig 1902.
 64) Gonder, Beiträge zur Kenntnis der Kernverhältnisse bei den in Cephalopoden schmarotzenden Infusorien. (Archiv für Protistenkunde. Bd. V. 1905.)
 65) Caullery et Mesnil, Comptes Rend. Soc. de Biologie. 1903. p. 806.
 66) Laveran et Mesnil, (Ebenda. 1901. p. 883.)

Erklärung der Tafel.

Die Figuren sind alle gezeichnet bei einer Tubuslänge von 170 mm mit Oel-Imm. $\frac{1}{12}$ und comp. Ocular No. 18 (Leitz) mit dem Zeichenprisma.

Fig. 1—20. Ruhestadien des Spiralkernes (abgesehen von den Stadien, in welchen die Körnchen herausdifferenziert sind).

Fig. 1, 2, 5. Bacillenkette. Querwände nicht sichtbar (Färbung mit Heidenhain-Eisenhämatoxylin). Aus dem Spiralkerne sind hier und da die Körnchen herausdifferenziert.

Fig. 3, 4, 6, 7. Wie vorige, aber aus allen Spiralkernen sind die Körnchen herausdifferenziert.

Fig. 8, 9, 10, 11. Stäbchen momentan mit Methylenblau (1 + 10) gefärbt, um die wirkliche Größe zu demonstrieren. Fig. 11, 10, 8 zeigen verschiedene Stadien der Querwandbildung.

Fig. 12, 13. Zellen, wobei der Spiralkern nicht in Körnchen und Querfäden differenziert ist. Färbung mit Heidenhain-Hämatoxylin.

Fig. 14, 15. Spiralkern neben den Vakuolen sichtbar. Querfäden gehen teilweise über den Vakuolen hin (Hämatoxylin nach Heidenhain).

Fig. 16, 17, 18, 19. Wenig differenzierte Zellen (Heidenhain-Hämatoxylin). Vakuolen noch sichtbar. Bei Fig. 18 einreihig, bei Fig. 16, 17 unregelmäßig verteilt. Bei Fig. 19 zweireihig.

Fig. 20. Stäbchen mit NaCl 10 Proz., 24 Stunden behandelt. Plasma in periphere Ballen kontrahiert (Methylenblau).

Fig. 21—33. Teilungsstadien des Spiralkernes.

Fig. 21, 22, 23. Die Teilung des Kernes im Gange. Sie schreitet von unten nach oben fort. Bei *a* ist ein Körnchen in der Teilung begriffen; Fig. 21, 23 mit Heidenhain-Hämatoxylin; Fig. 22 mit Methylenblau (1 + 10) gefärbt.

Fig. 24. Die beiden Tochtspiralen weichen auseinander (Heidenhain-Hämatoxylin).

Fig. 25, 26, 27. Verschiedene Stadien des Auseinanderweichens (Fig. 25, 27 mit Methylenblau [1 + 10]; Fig. 26 mit Heidenhain gefärbt).

Fig. 28. Ein Stadium des Auseinanderrückens, wobei das erste Stadium vorgetäuscht wird (Heidenhain-Hämatoxylin).

Fig. 29. Weiteres Stadium des Auseinanderrückens (Heidenhain-Hämatoxylin).

Fig. 30, 31. Von dem einen Tochtspirale liegt nur noch eine Windung über der letzteren des anderen, Fig. 30 mit Heidenhain-Hämatoxylin, Fig. 31 mit Methylenblau (1 + 10) gefärbt.

Fig. 32, 33. Die zwei Spiralkerne sind ganz auseinandergerückt und haben schon wieder angefangen sich zu teilen. Bei *b* ist die Grenze der zwei Spiralen. Bei *b* (Fig. 33) ist eins der nebeneinander gelegenen Endkörnchen wieder in Teilung begriffen.

Nachdruck verboten.

Die Oxydation des Wasserstoffes durch Mikroorganismen.

[Arbeiten der landwirtschaftlichen Laboratorien und der Versuchswirtschaft der k. k. Hochschule für Bodenkultur in Wien.]

Von Dr. Hermann Kaserer.

Mit 2 Figuren.

Vor einiger Zeit habe ich in einer vorläufigen Mitteilung gezeigt¹⁾, daß die bei zahlreichen biologischen Prozessen entstehenden Gase Wasser-

1) Zeitschr. f. landw. Versuchswesen Oesterr. 1905. p. 789. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. p. 572.

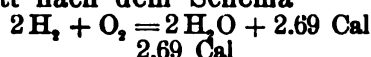
stoff und Methan durch andere biologische Prozesse wieder in den Kreislauf der Natur zurückgeführt werden können. Meine diesbezüglichen Untersuchungen sind inzwischen rücksichtlich des Wasserstoffes zu einem vorläufigen Abschluß gelangt; rücksichtlich des Methans wird eine ausführliche Publikation in kurzer Zeit nachfolgen, in welcher ich auch auf die inzwischen von O. Söhngen¹⁾ gemachte Mitteilung zurückkommen werde.

Wie im folgenden näher ausgeführt werden wird, habe ich zwei morphologisch und physiologisch voneinander wohlunterschiedene Bakterienarten auffinden können, denen das Vermögen, Wasserstoff veratmen zu können, zukommt und die beide in der Ackererde weit verbreitet sind.

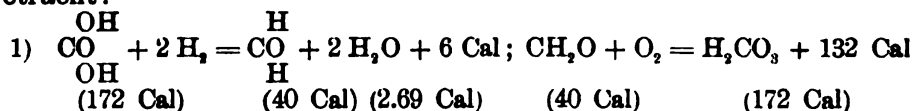
Die eine dieser Bakterienarten, *Bacillus pantotrophus* n. sp., ist, wie es scheint, mit keiner bisher bekannten Art identisch und besitzt die überraschende Eigenschaft, sowohl autotroph von Kohlensäure, unter Oxydation von Wasserstoff, als auch heterotroph auf fast allen gebräuchlichen Nährböden leben zu können, während bekanntlich alle anderen bisher bekannten autotrophen Organismen gegen organische Substanzen sehr empfindlich sind und überhaupt nur eine, ihnen spezifisch zukommende Lebensfunktion ausüben können.

Die andere Bakterienart, die mit dem Wasserstoff in Beziehung treten kann, *Bacillus oligocartrophilus*, wurde von Beijerinck und van Delden²⁾ vor einiger Zeit aus Ackererde isoliert, ohne daß jedoch die genannten Forscher damals eine vollständige Erklärung der Physiologie dieses merkwürdigen Organismus gebracht hätten.

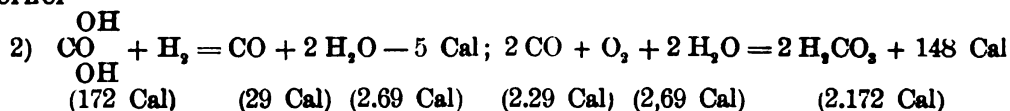
Schon zu Beginn meiner Untersuchungen drängte sich die Frage auf, ob die Oxydation des Wasserstoffes zu Wasser, wie sie die Rohkulturen aufwiesen, glatt nach dem Schema



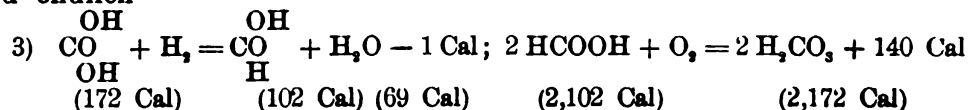
erfolge, oder ob, sei es mit Hilfe einer oder mehrerer Bakterienarten, Intermediärprodukte entstünden, von welchen Intermediärprodukten die Verbindungen des Wasserstoffes mit der Kohlensäure in erster Reihe in Betracht zu ziehen waren. Zunächst kämen also folgende Vorgänge in Betracht:



ferner



und endlich



Eingehende Versuche mit Reinkulturen des *Bacillus pantotrophus* haben ergeben, daß dieser Organismus die Oxydation nach Schema 1 vollzieht, wie weiter unten eingehend bewiesen werden soll.

Bacillus oligocarbophilus dagegen scheint die Oxydation,

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. p. 513.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. p. 33.

des Wasserstoffes zu Wasser nach Schema 2 vorzunehmen, wie sich insbesondere aus seinem Verhalten gegen Kohlenoxyd ergibt.

Für Schema 3 habe ich bisher einen Mikroben nicht auffinden können.

Den in meiner vorläufigen Mitteilung kurz besprochenen Zusammenhang zwischen Pflanzenbestand und Vorkommen der Wasserstoff oxydierenden Keime in der Ackererde habe ich nicht weiter verfolgt, da ich hoffe, mit Hilfe einer bereits eingeleiteten Versuchsreihe zur Aufklärung der sogenannten Rhizosphäre der Pflanzen in kurzer Zeit wesentliche Anhaltspunkte auf ganz anderem Wege beibringen zu können.

1. Entbindung und Vorkommen von freiem Wasserstoff in der Natur.

Die Zahl der Bakterienarten, die freien Wasserstoff entbinden, ist Legion, da sowohl aërobe als auch fast alle anaëroben Prozesse freien Wasserstoff liefern. Um nur einige Beispiele anzuführen, seien genannt:

der von Omeliansky aufgefundene Erreger der Wasserstoffgärung der Cellulose;

die Pektinvergärer (Erreger der Wasserröste des Flachses);

zahlreiche anaërobe Bakterien der Eiweißfäulnis;

die Buttersäurebakterien;

Bacillus formicicus Omeliansky (Ameisensäuregärung);

zahlreiche aërobe Bakterien bei der Vergärung von Zucker [nach Smith¹⁾ soll die bei $\frac{1}{3}$ aller säurebildenden Bakterien entstehende Kohlensäure stets Spuren von Wasserstoff enthalten].

Die anaërobe Produktion von Wasserstoff durch Pilze wurde schon 1789 durch Succow²⁾ und gleichzeitig von A. v. Humboldt festgestellt. Muntz hat dann weiterhin gezeigt, daß die Wasserstoffentwicklung einer anaëroben Zerlegung des Mannits entspringe. Ob höhere Pflanzen geringe Mengen von Wasserstoff ausatmen, scheint ebensowenig festzustehen wie die Wasserstoffausscheidung durch Tiere, wenn man natürlich von dem im Darm durch Mikroorganismen produzierten Wasserstoff absieht.

Daß auch durch nichtbiologische Vorgänge, wie Vulkaneruptionen und Entbindung eingeschlossenen Wasserstoffes bei der Zertrümmerung und Zersetzung mancher Gesteine, Wasserstoff in die Atmosphäre gelangen kann, sei schließlich nur nebenbei erwähnt.

Während also zahlreiche Quellen des Wasserstoffes in der Natur bekannt sind, findet sich das Gas selbst nur in sehr geringen Mengen, ja von manchen wurde die Anwesenheit dieses Gases in der Luft überhaupt geleugnet. Neuerlich hat aber A. Gautier³⁾ den Wasserstoff in einer Menge von 11—18 ccm in 100 l Luft nachgewiesen und dabei gefunden, daß zwischen dem Gehalt der Luft an diesem Gas zwischen der Luft des Meeres, des Landes und der Städte Unterschiede sich nicht feststellen lassen, ein Umstand, der bei der hohen Molekulargeschwindigkeit des Wasserstoffes nicht verwunderlich erscheint. Lord Rayleigh bezweifelt nach Hann⁴⁾ die angegebene Menge und schätzt den Wasserstoffgehalt der Atmosphäre auf 0,0033 Vol.-Proz., während Hann 0,01 Vol.-Proz. annimmt. Letzterer berechnet, daß infolge des geringeren

1) Centralbl. f. Bakt. Bd. XVIII.

2) Nach Czapek, Biochemie der Pflanzen. Bd. II. p. 490.

3) Comptes rendus. T. CXXX. p. 1353 und später wiederholt.

4) Lehrbuch der Meteorologie. 2. Aufl. p. 6.

spezifischen Gewichtes des Wasserstoffes die Atmosphäre in 50 km Seehöhe 13 Vol.-Proz., in 100 km Seehöhe über 99 Vol.-Proz. Wasserstoff enthalte.

Auffallend ist, daß bis nun Wasserstoff in der Bodenluft nicht nachgewiesen wurde, wenigstens konnte ich in den mir zugänglichen Untersuchungen keinen Hinweis darauf finden. Größere Mengen dürften sich allerdings kaum vorfinden, da besonders in den oberen Schichten das Gas, sofern es an einzelnen Stellen überhaupt als Gas vorkommt, alsbald oxydiert werden dürfte. Mit mehr Aussicht auf Erfolg könnte man die Exhalationen tieferer Bodenschichten auf Wasserstoff untersuchen, besonders dort, wo das Grundwasser Eisenoxydul enthält, wodurch die Abwesenheit von Sauerstoff in diesen Bodenschichten nachgewiesen erscheint. Insbesondere wäre es eine dankbare Aufgabe, der Frage näherzutreten, ob nicht infolge der im Untergrunde stets vor sich gehenden Zersetzung der organischen Substanzen Wasserstoff und Methan gebildet werden, die dann in die oberen Bodenschichten hinaufsteigen und dort mit Hilfe des Sauerstoffes der Luft als Energiequelle für Organismen dienen. Dadurch würde die organische Substanz tieferer Bodenschichten für den Ackerbau und überhaupt die Vegetation an der Oberfläche wieder nutzbar gemacht. Vielleicht würde dieser Vorgang auch die hohe Wertschätzung erklären, die humusreicher Untergrund, ganz abgesehen von seinem günstigen Einfluß auf die Wasserverhältnisse der Ackerkrume, gerade in Kreisen der Praktiker stets erfahren hat.

Ueber das Schicksal des Wasserstoffes in der Natur hat A. Gautier die Ansicht geäußert, daß derselbe teilweise in den Weltraum diffundiere. Das Resultat dieses Prozesses, über dessen Möglichkeit andere entscheiden mögen, wäre eine Abnahme der Wassermengen auf der Erde, sowie eine Zunahme des Sauerstoffgehaltes der Atmosphäre. Da jedoch letzterer durch Bindung an Kohlenstoff (Zunahme der Karbonate auf Kosten von Silikaten, wie sie ja tatsächlich stattzufinden scheint) wieder beseitigt würde, so würde sich durch Gautiers Hypothese die innerhalb geologischer Zeiträume anscheinend eintretende Verringerung der organischen Substanz und des Wassers der Erde aufklären.

Mir allerdings schiene es, als ob diesem Prozesse des Entweichens von Wasserstoff, sofern er überhaupt stattfinden kann, deswegen eine besondere Bedeutung nicht zukomme, weil die im Boden wohl überall vorhandenen wasserstoffoxydierenden Organismen ein Entweichen des Wasserstoffes außer aus Sümpfen und ähnlichen Orten wohl verhindern werden. Versuche allerdings, ob diese Mikroorganismen auch befähigt sind, den in der Atmosphäre vorhandenen Wasserstoff sich nutzbar zu machen, sind ausnahmslos negativ verlaufen.

2. Apparate zur Kultur von Bakterien, die Gase veratmen.

Wie ich schon in meiner vorläufigen Mitteilung angeführt habe, eignen sich gewöhnliche Gärkölbchen nach Einhorn sehr gut zur Anlage wasserstoffoxydierender Kulturen. Man verwendet dieselben natürlich umgekehrt, d. h. benützt den geschlossenen Schenkel zur Aufnahme des oder der Gase, das man mittels einer Kapillare, die in ihrem weiten Teile einen Asbestpfropf besitzt, einleitet. Die Sterilisierung der Kapillare kann, sofern man nicht Knallgas durchleitet, während des Durchleitens des Gases durch Ausglühen in der Flamme erfolgen. Die Gärkölbchen verwende ich in den Größen 5 ccm und 35 ccm Inhalt des geschlossenen

Schenkels. Da sich Gärkölbchen mit Glasfuß wenig standfest erwiesen, überdies das Sterilisieren sehr schlecht vertragen, so ließ ich mir Gärkölbchen anfertigen, die statt des Fußes einen Dorn aus Glas hatten. Mit diesem Dorn wurde das Kölbchen in einen großen Kork gesteckt. Diese Konstruktion war nun allerdings dauerhafter, aber die Standfestigkeit ließ noch immer zu wünschen übrig. Am besten bewährt haben sich schließlich Gärkölbchen ohne Fuß, die man serienweise in einem hölzernen Gestelle, das nach Art eines Eprovettengestelles gebaut ist, aufstellt. Zu beachten bleibt, daß die Verengung zwischen geschlossenem Schenkel und Kugel, sowie auch der Hals oberhalb der Kugel, der mit einem Wattebausch verschlossen wird, bei verschiedenen Kölbchen gleichweit sein müssen, da einerseits schon die Diffusion des Wasserstoffes von der Weite des Bugrohres, andererseits auch die Schnelligkeit der Oxydation von der Lüftung abhängt.

Für genauere Versuche genügen die halbseitig offenen Kölbchen nicht. Ich benütze für diese Versuche Kölbchen mit etwa 35 ccm Inhalt, die graduiert sind, und die einen in die Verengung eingeschliffenen Glasstab besitzen. Siehe Figur 1.

Dadurch wird es möglich, die Flüssigkeit samt den Gasen im inneren Schenkel von der Flüssigkeit im äußeren Schenkel und auch von der äußeren Luft hermetisch abzuschließen. Mit diesem einfachen, billigen und leicht zu reinigenden Apparate lassen sich auch annähernde Gasanalysen ausführen, besonders z. B. des nach der biologischen Wasserstoffoxydation verbleibenden Restes von O_2 und CO_2 , indem man mit einer Pipette zuerst KOH einbringt, verschließt, schüttelt, sodann feste Pyrogallussäure einbringt, verschließt und abermals schüttelt.

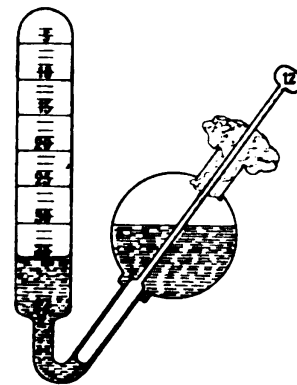


Fig. 1.

Schmilzt man in die Kuppe zwei Platindrähte ein, so kann man auch Bestimmungen von Wasserstoff und Methan vornehmen. Das rasche und bequeme Arbeiten entschädigt reichlich für die naturgemäß vorhandene geringe Genauigkeit. Da der Schliff stets unter Wasser ist, so ist sicherer Verschluss gewährleistet. Ich habe auch mit anders konstruierten Apparaten, die demnächst beschrieben werden sollen, Versuche angestellt. Aber die Schwierigkeiten absolut dichtschießender Hähne, die Kostspieligkeit und Größe solcher Apparate, die man dann naturgemäß nicht dutzendweise verwenden kann, wie es doch oft nötig ist, machen dieselben für biologische Arbeiten wenig geeignet.

Die vorhin beschriebenen Stangenkolben, wie ich sie zu nennen pflege, eignen sich auch sehr gut zur Kultur anaerober Bakterien.

Die Zucht der Gasbakterien erfolgt auf Kieselsäureplatten, die ich nach dem schönen Verfahren herstelle, das Beijerinck¹⁾ vor einiger Zeit beschrieben hat, in Glasglocken, wie sie für die Kultur der anaeroben Bakterien üblich sind. Zum Mischen der Gase, wie sie in diese Glocken eingefüllt werden, benütze ich einen eigenen Apparat. Derselbe besteht (Fig. 2) aus einem etwa 1200 ccm fassenden Mischcylinder *A* aus Glas. In denselben mündet unten seitlich das Gaszuführungsrohr *a*, in welches ein Dreiweghahn *d* eingesetzt ist. Auf der anderen Seite ist der Misch-

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. p. 38.

cylinder mit dem Trichterrohre *B* verbunden, das wieder unten einen Quetschhahn *c* zum Ablassen von Flüssigkeit besitzt. Der Mischcylinder trägt oben den Hahn *b*, an den das Gasabführungsrohr *c* anschließt. Die Benutzung dieses Apparates erfolgt in folgender Weise:

Der das Gas liefernde Kippische Apparat oder Gasbehälter wird an *a* angeschlossen. Mittels des Dreiweghahnes wird so lange Gas in

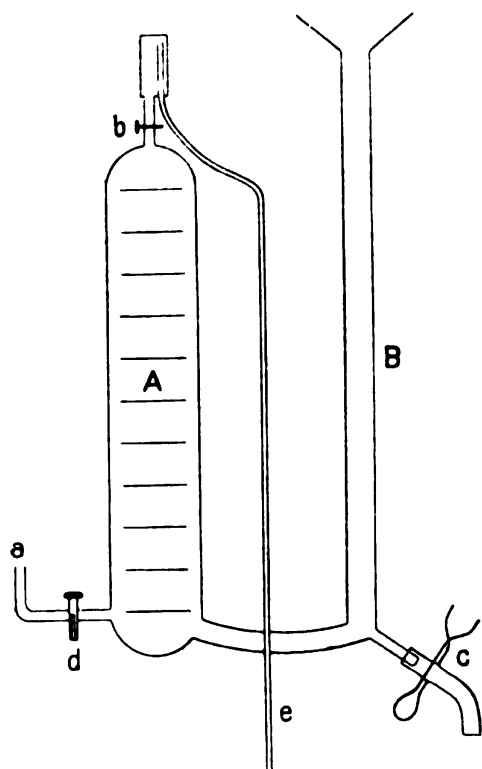


Fig. 2¹⁾.

die Luft entlassen, bis sämtliche Luft aus den Waschflaschen u. s. w. vertrieben ist. Hierauf stellt man den Hahn um, so daß das Gas nach *A* eintreten kann. *A* ist mit einer Flüssigkeit gefüllt, die Gase wenig absorbiert, ich verwende z. B. nach dem Rate des Herrn Professor Zeisel gesättigte Chlorcalciumlösung. Bevor man das Gas eintreten läßt, öffnet man den Quetschhahn *c* und senkt dadurch den Flüssigkeitsspiegel in *B*, um infolge des verminderten Druckes dem Gas das Eintreten in *A* zu erleichtern. Das Gas steigt in *A* auf und verdrängt die Lösung, die bei *c* in ein untergestelltes Gefäß abfließt. Mit Hilfe der Hähne *c* und *d* kann man, wenn die Flüssigkeit in beiden Schenkeln gleich hoch steht, genau ein bestimmtes Gasvolumen abmessen. Man schließt nun einen anderen Gasbehälter an und kann eine beliebige Menge eines anderen Gases hinzufügen.

Hat man die gewünschte Mischung fertig, so schließt man die Glocke, unter welcher sich die Platte befindet, bei *e* an und evakuiert die Glocke und das Rohr *e*. Ist dies geschehen, so läßt man durch Öffnen des Hahnes *b* unter gleichzeitigem Nachfüllen von Lösung in *B* das Gas vorsichtig hinübertreten. Für Versuche mit Bakterien muß der Wasserstoff sorgfältig gereinigt werden. Da mir elektrolytisch dargestellter Wasserstoff nicht zu Gebote stand, bereitete ich denselben aus chemisch reinem Zink und chemisch reiner Schwefelsäure und reinigte ihn durch Durchleiten durch Kupfersulfatlösung, saure und alkalische Kaliumpermanganatlösung und konzentrierte Schwefelsäure. Auch die Kohlensäure muß, sofern man nicht käufliche flüssige benutzt, mit Permanganat und Wasser gereinigt werden. Sauerstoff verwendete ich elektrolytisch hergestellten, mit einem Gehalte von 5 Proz. Wasserstoff.

Die von mir verwendete mineralische Nährlösung besteht aus

| | |
|--------------|------------|
| K_2HPO_4 | 0,05 Proz. |
| $MgSO_4$ | 0,02 " |
| NH_4Cl | 0,1 " |
| $NaHCO_3$ | 0,05 " |
| Eisenchlorid | Spur |

1) Die Apparate werden von F. Hegershoff, Leipzig hergestellt.

3. Versuche mit Rohkulturen.

Impft man ein mit Nährlösung, etwas Kohlensäure und Wasserstoff beschicktes Gärkölbchen mit Ackererde, so findet man zunächst, daß jene Bakterien sich vermehren, die, wie die Fluoreszenten u. s. w., von organischer Substanz leben. Aber schon nach wenigen Tagen treten diese Arten stark zurück und es beginnt etwa am 5. Tage der Wasserstoff des beimpften Kölbchens gegen das Kontrollkölbchen merklich abzunehmen.

Die Abnahme beträgt bei 5 ccm Kölbchen etwa 0,1—0,2 ccm pro Tag. Die bakteriologische Flora ändert sich vollständig, wobei zwei Fälle eintreten können: entweder es bildet sich keine Haut.

Dann überwiegt ein beweglicher Bacillus, dessen gelblich gefärbte Kolonien auf Gelatine erst nach 4—6 Tagen wachsen und dieselbe nicht verflüssigen, und mehrere ziemlich konstant auftretende Begleiter dieses Organismus.

Oder es bildet sich eine Haut; dies scheint besonders dann einzutreten, wenn man Knallgas statt Wasserstoff einfüllt, keine oder sehr wenig Kohlensäure zugibt, oder wenn man bei höherer Temperatur (37°) kultiviert. Die Haut erscheint nach 4—5 Tagen, oxydiert sehr kräftig Wasserstoff und wächst dabei üppig. Wie ich schon in meiner vorläufigen Mitteilung angegeben habe, kann man durch vorsichtiges Neigen des Kölbchens den über der Haut befindlichen Gasrest (meist Stickstoff) beseitigen und frischen Wasserstoff einfüllen, der dann von der Haut in unglaublich kurzer Zeit oxydiert wird, so daß im Tage 1—2 ccm Wasserstoff verschwinden.

Untersucht man nun die Haut unter dem Mikroskop, so findet man, daß dieselbe aus zahlreichen, sehr kleinen, unbeweglichen Bakterien besteht, die in Haufen beisammenliegen. Das äußere Ansehen und das mikroskopische Bild der Haut ähneln auffallend dem *Bacillus oligocarbophilus*, den Beijerinck und van Delden vor einiger Zeit isoliert haben, und den ich um so leichter wiedererkennen konnte, als ich ihn unter Herrn Professor Beijerincks Leitung in Delft reingezüchtet hatte.

Gelatineplatten, die von wasserstoffoxydierenden Kulturen mit Haut angelegt wurden, ergaben ein wechselndes Bild. Außer Fluoreszenten zeigte sich häufig ein verflüssigender Organismus, den ich mit dem von Löw¹⁾ aufgefundenen *Bacillus methylicus* identifizieren konnte. Auf Kieselsäureplatten wuchs in Knallgas-Kohlensäureatmosphäre fast nichts, mikroskopisch kleine Kolonien entwickelten sich wohl, wuchsen aber nicht weiter. Brachte man die Platte aber aus der Glocke in Luft, so wuchsen die mikroskopisch kleinen Kolonien weiter und entwickelten sich zu Kolonien des *Bacillus oligocarbophilus*.

Mitunter konnte auch in jenen Gärkölbchen, in denen die Oxydation des Wasserstoffes ohne Hautbildung vor sich ging, der *B. oligocarbophilus* mit seinen Begleitern auf davon angelegten Kieselsäure- und Gelatineplatten nachgewiesen werden.

Der aus Kulturen ohne Haut isolierte, auf Gelatine gelbe Kolonien bildende Organismus schien auch in Reinkultur befähigt zu sein, Wasserstoff zu oxydieren. Da es mir aber nicht gelingen wollte, ihn auf Kieselsäureplatten heranzuziehen, mußte ich vermuten, daß eine mir unentdeckt bleibende Verunreinigung das Wasserstoff oxydierende Prinzip sei. Nach

1) Centralbl. f. Bakt. Bd. XII. p. 462.

mancherlei vergeblichen Versuchen gelang es mir durch einen Kunstgriff doch endlich, auf Kieselsäure Kulturen zu erziehen, und da damit bewiesen erschien, daß der Organismus Wasserstoff oxydieren könne, ging ich daran, die Eigenschaften dieses merkwürdigen Lebewesens näher zu erforschen. Mit Rücksicht darauf, daß es der erste aufgefundene Organismus ist, der autotroph, von Wasserstoff, Sauerstoff, Kohlensäure, und der aber auch heterotroph, auf den meisten organischen Nährböden leben kann, möchte ich vorschlagen, den Organismus *Bacillus pantotrophus* zu nennen.

4. Isolierung von *Bacillus pantotrophus* n. sp.

Man legt von Wasserstoff oxydierenden Rohkulturen ohne Haut etwa am 6.—8. Tage Gelatineplatten an. Etwa aufkommende verflüssigende Kolonien stiftet man ab. Am 5.—6. Tage nach der Aussaat zeigen sich kleine hellbräunlichgelbe oder hellgrünlichgelbe Kolonien, die die Gelatine nicht oder nur sehr langsam und schwer verflüssigen. Die Tiefenkolonien bleiben klein, linsenförmig, die Oberflächenkolonien wachsen bis zu einer Größe von 4—5 mm heran, wobei sich mitunter ringförmige Farbenabstufungen zeigen. Bei schwacher Vergrößerung zeigt sich die Kolonie bräunlichgelb, fein granuliert; der Rand ist glatt.

Wenn die Rohkultur kräftig Wasserstoff oxydiert und keine Haut zeigt, so wächst aus der ersten Rohkultur, worin sich also noch die Impferde befindet, der Organismus fast in Reinkultur auf der Platte. Wenn sich viele verflüssigende Kolonien zeigen (meist schon nach 2 Tagen), so ist die Rohkultur für die Isolierung des *Bacillus pantotrophus* nicht zu verwenden. Sie ist dann entweder noch zu jung, oder der Wasserstoff ist mit Kohlenwasserstoffen verunreinigt, wodurch die Fluoreszenten begünstigt werden, oder die Kultur enthält hauptsächlich den *Bacillus oligocarophilus* mit seinen Begleitern. Da man mit Ueberimpfungen selten zum Ziel kommt, tut man besser eine neue Kultur anzulegen und von vornherein ziemlich viel Kohlensäure zuzugeben.

Zur Isolierung des *Bacillus pantotrophus* verwende ich meist große Glaskölbchen mit 35 ccm Inhalt, die ich mit 5 ccm CO_2 und 30 ccm H_2 beschicke. Wenn man so arbeitet, muß man unbedingt ein Kontrollkölbchen anwenden, da man sonst leicht das allmähliche Entweichen des CO_2 für Wasserstoffoxydation halten könnte. Mit weniger CO_2 macht es oft Schwierigkeiten, den Organismus anzuhäufen. Hat man also den beschriebenen Organismus auf der Gelatineplatte, so macht man zur Reinzucht abermals eine Gußkultur von einer einzelnen Kolonie u. s. f., bis man eine sichere Reinzucht hat. Gleichzeitig überzeugt man sich durch Einimpfung in ein steriles Wasserstoffkölbchen davon, daß der Mikrobe Wasserstoff oxydiert.

Hat man nun endlich eine Reinzucht, die Wasserstoff oxydiert, so kann man versuchen, die Bakterien auf Kieselsäure zu ziehen. Man legt eine Strichkultur an und verschließt die Platte unter einer Glocke. Hierauf wird evakuiert und mit einer Mischung von 3 Teilen Wasserstoff und 1 Teil Kohlensäure beschickt. Bei 28—30° wachsen nach 5 bis 6 Tagen dicke hellgelbe Strichkolonien auf der Platte, die einen in Hinsicht auf das kümmerliche Wachstum der übrigen Autotrophen um so merkwürdigeren Anblick gewähren. Ist der Mikrobe einmal auf der Kieselsäureplatte angewachsen, so wächst er auch in Knallgas mit nur wenig CO_2 weiter, nur zum Anwachsen ist unbe-

dingt eine im Verhältnis zur Sauerstoffmenge beträchtliche Kohlensäuremenge erforderlich. Jedoch ist der *Bacillus aërob* (mikroaërophil im Sinne Beijerincks) und wächst bei Abhaltung von Sauerstoff überhaupt nicht. Es genügen aber offenbar die im Wasserstoff und Kohlensäure enthaltenen, sowie die am Glase u. s. w. adhärenen Sauerstoffmengen vollständig. Wenn man den Organismus unter der Glocke öfters „füttert“, so kann im Laufe einiger Wochen eine ganz beträchtliche Menge an Bakteriensubstanz erzeugt werden, da die Kolonien, die sich, wenn die Platte nicht naß ist, nicht ausbreiten, sehr dick und schleimig werden.

Es ist ohne weiteres möglich, zur Isolierung des *B. p.* auch den umgekehrten Weg zu gehen, nämlich aus der Rohkultur Strichkulturen auf Kieselsäure anzulegen und davon dann wieder Strichkulturen auf Kieselsäure oder Gußkulturen auf Gelatine. In der Tat habe ich den Mikroben zum erstenmal auf anorganischem festen Nährboden auf diese Weise gezogen, als ich den oben erwähnten verunreinigenden Organismus auffinden wollte. Da man aber bekanntlich mit Strichkulturen gewöhnlich überhaupt nicht zum Ziele kommt, so möchte ich das zuerst beschriebene Verfahren als das verlässlichere empfehlen. Daß man auch unter Verwendung von ausgefaultem Agar, mit Hilfe dessen man sowohl Strich- als Gußkulturen anlegen kann, zum Ziele gelangen kann, sei nur nebenbei erwähnt.

Durch den Umstand, daß die Wasserstoff oxydierende Reinkultur auch auf Kieselsäure wuchs, war die Autotrophie des fraglichen Mikroben mit Sicherheit festgestellt.

5. Morphologie von *Bacillus pantotrophus*.

Synonyme: Obwohl ich die mir zur Verfügung stehende Literatur eifrig durchforscht habe, habe ich keinen Mikroben, dessen Beschreibung übereingestimmt hätte, auffinden können.

Mikroskopisches Aussehen: Kurzstäbchen, etwa 1,2—1,5 μ lang, 0,4—0,5 μ breit, bei zusagendem Nährboden mitunter auch größer. Enden abgerundet. Meist liegen zwei Kurzstäbchen beisammen, auch Ketten kommen vor, sind aber selten. Die Bakterien sind, besonders in jungen Kulturen, lebhaft beweglich.

Mit den gebräuchlichen Anilinfarben ist der Organismus leicht färbbar. Aeltere Kulturen zeigen häufig Polkörper an den Enden.

Sporenbildung habe ich niemals beobachten können. Die Bakterien sind von einer Kapsel umgeben, die sich nach John e leicht sichtbar machen läßt. Auch Reinkulturen zeigen Kapseln.

Begeißelung. Nach der von A. Meyer angegebenen Modifikation des Löfflerschen Verfahrens können die Geißeln sichtbar gemacht werden, der Schleim, der auch die auf anorganischen Platten und in Knallgasbouillon gewachsenen Mikroben umgibt, bereitet jedoch häufig Schwierigkeiten. Die Bakterien besitzen eine einzige polare Geißel, die etwa 4—6mal so lang ist als der *Bacillus*. Der *Bacillus* gehört daher in die Gattung *Pseudomonas* Mig., und ich wäre nicht angestanden, ihn *Pseudomonas pantotropa* zu nennen, wenn nicht die heute auf dem Gebiete der Nomenklatur der Bakterien herrschenden anarchischen Zustände jede andere Bezeichnung als *Bacillus* fast unmöglich machten.

Sauerstoffbedürfnis: Wächst nur aërob.

Ansprüche an Temperatur und Nährboden: Wächst am

besten bei 28—30°, weniger gut bei 37°, bei 50° scheint er überhaupt nicht mehr zu wachsen. Bei Zimmertemperatur wächst er langsamer. Wächst auf den verschiedensten Nährböden, besonders gut auf eiweiß-freien.

Gelatineplatte: Die Kulturen sind gelb, glatt, selten mit konzentrischen Ringen oder grünlich. Die Gelatine wird in der Regel nicht verflüssigt. Saure Erbsengelatine, auf der der Organismus sehr gut wächst, wird mitunter erweicht.

Die Kolonien erscheinen erst nach mehreren Tagen, die tiefliegenden bleiben klein, die aufliegenden wachsen zu einer Größe von 4--5 mm heran.

Bei schwacher Vergrößerung sind die Kolonien bräunlichgelb, fein granuliert, der Rand ist stets glatt.

Gelatinestrich: Bei allen Strichkulturen bleibt der Organismus, wenn kein Kondenswasser vorhanden ist, auf dem Striche und breitet sich nicht aus. Der Rand ist glatt.

Gelatinestich: Wachstum findet nur aërob an der Eintrittsstelle statt, wo eine gelbe Auflagerung entsteht.

Agarkulturen: Zeigen meist dasselbe Aussehen wie die Gelatine-kulturen, hier und da sind sie etwas grünlich gefärbt, oft zäh schleimig.

Bouillonkulturen: Wenig schleimig, diffus getrübt, Hautbildung selten.

Milch wird nicht koaguliert. Der Organismus wächst gelb auf der Oberfläche, die Milch nimmt eine schmutzig fleischfarbene Farbe an.

Kartoffelkultur: Wächst als gelbe Auflagerung, glänzend saftig.

Chemische Leistungen: Oxydiert Wasserstoff bei Gegenwart von Sauerstoff und viel Kohlensäure zu Wasser.

Bildet weder Indol, noch Schwefelwasserstoff, vergärt Zucker nicht, bildet in Fleischzuckerbouillon wenig Alkali. Reduziert weder in autotropher noch in heterotropher Lebensweise Nitrate.

Nährstoffe: Auxanographisch wurde festgestellt, daß als Kohlenstoffquellen brauchbar sind, gut: Pepton, Mannit, Rohrzucker, Traubenzucker; weniger gut: Glycerin, Harnstoff, Formiate; als Stickstoffquellen: Ammon, Nitrat, Nitrit, Harnstoff, Pepton, Asparagin.

Harnstoffvergärung: Vergärt Harnstoff nicht. Verwendet ihn nur dann als Kohlenstoff, bzw. Stickstoffquelle, wenn ihm eine andere Stickstoff- bzw. Kohlenstoffnahrung gegeben wird.

Autotrophe Lebensweise: Lebt in Kohlensäureknallgas, sowohl in mineralischer Nährlösung als auf Kieselsäuregallerte. Die Kulturen in Lösung sind diffus getrübt, Hautbildung kommt niemals vor. Die Kulturen auf der Platte sind gelb, schleimig, die Platte riecht deutlich nach Wäsche, die in Seifenwasser gekocht wird. Die Kulturen entfernen sich niemals vom Strich, außer wenn Kondenswasser vorhanden.

Mitunter bekommen die Kieselsäureplatten Risse, die sich baumartig verzweigen. Sammelt sich in diesen Rissen Kondenswasser, so kann ein streptothrixähnliches Wachstum vorgetäuscht werden.

Resistenz: *B. pantotrophus* lebt auf alkalischen und schwach sauren Nährböden. Gegen Austrocknen ist er wenig empfindlich. Er verträgt Formaldehyd 1:15000 und vermehrt sich in Formaldehyd 1:20000. 1:10000 tötet ihn ab.

Bacillus pantotrophus lebt nur dann autotroph, wenn

infolge Abwesenheit einer organischen Kohlenstoffquelle eine heterotrophe Lebensweise nicht möglich ist.

6. Physiologie von *Bacillus pantotrophus*.

Die überraschende Tatsache, das *B. p.* sowol autotroph als auch heterotroph leben kann, findet, wie schon in der Einleitung erwähnt, darin ihre Erklärung, daß *B. p.* befähigt ist, Wasserstoff und Kohlensäure zu Formaldehyd zu vereinigen und diesen Formaldehyd als Nährstoff zu verwenden, d. h. ihn mit Hilfe des Sauerstoffes zu Kohlensäure und Wasser zu verbrennen. Zu dieser Anschauung, die im folgenden bewiesen werden soll, hat mich ein Zufall geführt. Um nämlich zu verhindern, daß die Kieselsäureplatten im Exsiccator austrocknen, brachte ich jedesmal auch ein Gefäß mit Wasser unter die Glocke. In diesen Gefäßen siedelten sich in destilliertem Wasser Bakterien in solchen Massen an, daß sie, sofern man dasselbe Gefäß wiederholt benutzte, den Wasserstoff oxydierten, bevor die Kolonien auf der Platte zur Entwicklung kamen. Um diese ungebetenen Gäste fernzuhalten, versetzte ich das destillierte Wasser mit einigen Tropfen Silbernitratlösung. Ich war nun nicht wenig erstaunt, eines Tages einen Silberspiegel, wie er als Reaktion auf Aldehyde entsteht, vorzufinden. Kontrollversuche ergaben, daß der Silberspiegel auch entsteht, wenn die Kieselsäureplatte CaCO_3 enthält, ein Entweichen von etwa gebildeter Ameisensäure in Dampfform daher unmöglich ist und in der Regel nur entsteht, wenn auf der Platte Kolonien wachsen. Eine diffuse Fällung von Silber erzeugt schon die Kohlensäure-Wasserstoffatmosphäre an sich, ja man kann, wenn man ammoniakalische Silberlösung verwendet, auch einen schwachen Spiegel erhalten. Sofern aber auf der Platte Kolonien wachsen, entsteht ein viel stärkerer Silberspiegel. Die Deutung dieser Erscheinung fällt nicht schwer: Wasserstoff und Kohlensäure verbinden sich anscheinend schon bei gewöhnlicher Temperatur spurenweise zu Formaldehyd, der dann auf das Silbersalz einwirkt, dadurch beseitigt wird, worauf infolge des gestörten Gleichgewichtes zwischen H_2 , H_2CO_3 , CH_2O , wieder eine neue Spur Formaldehyd entsteht u. s. f. Da nun schon an sich, ohne daß ein Katalysator (wenn nicht vielleicht das Silbersalz als solcher wirkt) auffindbar wäre, eine Vereinigung von H_2CO_3 und H_2 in meßbaren Mengen stattzufinden scheint, so war es naheliegend, anzunehmen, daß der Mikrobe diese mit Wärmeabgabe (siehe Einleitung) verlaufende Reaktion derart zu beschleunigen vermöge, daß er den entstehenden Formaldehyd, der, von seiner Giftigkeit abgesehen, einen guten Nährstoff darstellt, sich zunutze machen könne. War diese Anschauung richtig, so konnte man annehmen, in Gasbouillonkulturen freien Formaldehyd aufzufinden zu können, und andererseits mußte der Mikrobe neben einer relativen Unempfindlichkeit gegen das Gift diesen tatsächlich als Nährstoff verwenden können. Da beide Folgerungen zutreffen, wie unten gezeigt werden wird, so erscheint die Physiologie des autotrophen Lebens von *B. p.* in solcher Weise aufgeklärt, daß die Pantotrophie dieses Mikroben sich gewissermaßen als selbstverständlich ergibt.

Was zuerst den Nachweis von Formaldehyd betrifft, so gelingt derselbe in folgender Weise:

Bringt man in ein geschlossenes Gärkölbchen mineralische Nährlösung, ferner nach Beimpfung mit *B. p.* CO_2 , H_2 , O_2 im beiläufigen Verhältnis von 1:2:1½ und kultiviert bei 28—30° so scheint zunächst ein Wachstum überhaupt nicht einzutreten. Erst nach etwa 6—8 Tagen

trübt sich die Flüssigkeit und saugt, wenn man öffnet, Lösung nach, ein Zeichen, daß das Gasvolumen sich vermindert hat. Nach weiteren 2 Wochen ist in der Regel der Wasserstoff verbraucht. Dies erkennt man daran, daß die starke Verminderung des Gasvolumens, die täglich 1–2 ccm (bei großen Kölbchen mit 35 ccm Inhalt) beträgt, plötzlich aufhört und einer Verminderung um nur 0,1–0,2 ccm Platz macht. In diesem Momente, meist auch schon früher, ist es möglich, unter Benutzung der von Lebbin¹⁾ angegebenen Methode Formaldehyd nachzuweisen. Man filtriert nämlich die bakterienhaltige Flüssigkeit, wobei man zweckmäßig die außer dem Stopfen befindliche zuerst weggießt, versetzt mit einer geringen Menge Resorcin und mit dem $\frac{1}{2}$ –1fachen Volumen Natronlauge. Nach dem Aufkochen entsteht, wenn Formaldehyd vorhanden ist, beim Abkühlen eine rote bis rosa Färbung. In unserem Falle entsteht in der Regel, weil zu wenig Formaldehyd vorhanden ist, keine Rosafärbung, sondern der aus dem in der Nährlösung enthaltenen Magnesiumphosphat beim Abkühlen entstehende flockige Niederschlag reißt den Farbstoff mit nieder und erscheint rosa oder hellrot gefärbt. Lebbin gibt an, daß nach seiner Methode Formaldehyd in der Verdünnung 1:200 000 sich noch nachweisen lasse. Diese Angabe kann ich bestätigen und hinzufügen, daß die Schärfe der Reaktion durch Vorhandensein einer geringen Menge eines farblosen Niederschlages erheblich erhöht wird. Nach meinen blinden Versuchen schätze ich die Menge des in der Bakterienaufschwemmung vorhandenen Formaldehydes auf etwa 1:500 000. Bei dieser überaus geringen Menge darf es nicht wundernehmen, wenn ein Nachweis nach anderen Methoden mißlang. Durch Destillation den Formaldehyd zu konzentrieren ist deshalb nicht möglich, weil, wie es scheint, er beim Kochen sich sofort mit der organischen Substanz der Bakterien verbindet. Auch Versuche durch Eindunsten bei niedriger Temperatur ohne Zusatz, der immerhin eine Veränderung bewirken könnte, im Vakuum eine konzentriertere Formaldehydlösung herzustellen, erscheinen deshalb aussichtsslos, weil die in der Flüssigkeit vorhandenen lebenden Mikroben bei Sauerstoffzutritt und Mangel an Wasserstoff den Formaldehyd in kurzer Zeit verzehren. Schließlich versuchte ich auf andere Weise die Konzentration des Formaldehydes zu erhöhen. Ich leitete nämlich in Gärkölbchen, in denen die Oxydation des Gasgemisches bereits vor sich gegangen war und die daher eine bedeutende Masse lebender Bakterien enthielten, neuerlich Wasserstoff und Kohlensäure ein in der Hoffnung, diese in Massen vorhandenen Bakterien könnten Formaldehyd zwar bilden, aber nicht oxydieren, da ja der Sauerstoff mangelte. Aber auch diese Versuche mißlangen insofern, als eine konzentriertere Formaldehydlösung, wie sonst, sich nicht ergab. Es scheint somit, daß die lebenden Mikroben auf irgend eine Weise die Bildung einer zu hohen Konzentration des Formaldehydes, die ihnen selbst gefährlich werden könnte, verhindern können.

Wie schon oben erwähnt, mußte, falls meine Anschauung über die Physiologie des *B. p.* richtig war, der Mikrobe auch befähigt sein, Formaldehyd nicht nur in größeren Mengen zu vertragen, sondern auch denselben als Nährstoff zu verwenden. Um dies festzustellen, stellte ich folgenden Versuch an:

Ich stellte einerseits die Konzentration fest, welche *B. p.* tötet. Diese ergab sich als zwischen 1:10 000 und 1:15 000 liegend, indem

1) Zeitschr. analyt. Chemie. Bd. XXXVI. p. 518.

bei 1:15000 noch einzelne Bakterien am Leben blieben. Sodann stellte ich mineralische Nährlösung her und versetzte dieselbe mit Formaldehyd, so daß folgende Lösungen entstanden:

- a) 1:15000
- b) 1:20000
- c) 1:25000
- d) 1:30000
- e) 1:35000

Diese beimpfte ich mit *Bacillus pantotrophus* und kultivierte sie neben den sterilen Kontrollkolben bei 28°. Eine am 3. Tage angelegte Agarplatte ergab, daß bei a einzelne, bei b wenige Keime vorhanden waren, c, d, e zeigten sehr zahlreiche Keime.

Mit Ausnahme von a waren alle Kolben trüb, unter dem Mikroskope zeigten sich besonders bei d und e zahlreiche Bakterien, die aber schon bei d offenbar geschädigt waren, da sie sich meist nicht bewegten, wogegen sonst besonders junge Kulturen lebhaft beweglich sind.

Am 5. Tage blieb die Formaldehydreaktion bei e aus; bei d war sie schon sehr schwach geworden, bei den Kontrollen eC und dC war sie deutlich vorhanden.

Am 7. Tage zeigten auch die höheren Konzentrationen c und b keine Formaldehydreaktion mehr, a und die Kontrollen zeigten sie. Die wenigen bei a ursprünglich am Leben gebliebenen Keime vermehrten sich, vielleicht durch das Entweichen eines Teiles des Formaldehyds in die Atmosphäre begünstigt, doch schließlich und brachten die Reaktion am 10. Tage zum gänzlichen Verschwinden.

Durch diesen Versuch erscheint nachgewiesen, daß unser Mikrobe Formaldehyd als Kohlenstoffquelle verwenden kann.

Bei der Bedeutung, die der Formaldehyd für die gesamte Assimilationsfrage besitzt, wovon weiter unten die Rede sein soll, war es wichtig, noch eine weitere Stütze für meine Anschauung zu finden. Diese fand ich in folgendem Versuch:

Ich stellte vier Rohkulturen mit Erde und Wasserstoff und der mineralischen Nährlösung her und zwar

- a) Kontrolle
- b) Formaldehyd 1:20000
- c) " 1:10000
- d) " 1:5000

Nach 5 Tagen zeigte sich bei a und b Oxydation des Wasserstoffes. Die Untersuchung mit Hilfe von Gelatineplatten ergab

- bei a *B. pantotrophus* neben zahlreichen anderen Bakterien,
- " b *B. pantotrophus* neben wenig *B. methylicus* Löw.
- " c *B. methylicus* Löw.
- " d ebenso (später verschwunden).

Bei c und d zeigte sich auch späterhin keine Oxydation des Wasserstoffes.

Der Umstand, daß *B. p.* auf diesem Wege in relativer Reinkultur erhalten werden kann (nebenbei bemerkt, ein sehr bequemer Weg zur Isolierung des Mikroben) kann wohl als weiterer Stützpunkt meiner Theorie dienen.

Eine weitere Festigung derselben dürfte sich ergeben, wenn es gelänge, die Kondensation von Kohlensäure und Wasserstoff in vitro mit Hilfe eines isolierten Enzymes vorzunehmen. Vielleicht gelingt es mir auf dem Wege, den Buchner und Rapp bei der Hefe, und neuestens

Herzog bei den Milchsäurebakterien eingeschlagen haben. Da die Herstellung größerer Mengen Bakteriensubstanz auf Kieselsäureplatten bei dem in Rede stehenden Organismus keine sonderlichen Schwierigkeiten bereitet, besteht immerhin Aussicht, zu einem Erfolg zu gelangen.

Die gelbe, mitunter gelbgrünliche Farbe, welche die Kulturen des *Bacillus pantotrophus* auf Kieselsäure auszeichnet, verleitete mich dazu, nachzusehen, ob nicht *Bacillus pantotrophus* befähigt sei, auch im Lichte Kohlensäure zu assimilieren. Aber alle diese Versuche verliefen negativ. *B. p.* kann weder im Dunkeln den in der Luft befindlichen Wasserstoff veratmen, noch kann er im Tages- oder Sonnenlicht Kohlensäure assimilieren. Dieser negative Befund blieb auch aufrecht, als ich statt Luft mit Luft verdünnte CO_2 oder reine CO_2 gab.

Das Verhältnis von H_2 zu O_2 , welches sich bei der Oxydation des Wasserstoffes ergab, ist insofern kein konstantes, als anfangs mehr Wasserstoff verbraucht wird als dem Verhältnis $2 \text{H}_2 : \text{O}_2$ entspricht. Diese merkwürdige Tatsache steht damit im Zusammenhang, daß in den Kulturen sich Formaldehyd vorfindet und die Bakterien vielleicht auch größere Mengen gebildete Kohlenhydrate als Reservestoff in ihren Leibern aufspeichern. Das Verhältnis $\text{CO}_2 : \text{H}_2 : \text{O}_2$ läßt sich nur sehr schwierig, mit geschlossenen Gärkölbchen überhaupt nicht feststellen. Auch die Feststellung der gebildeten organischen Substanz im Verhältnis zum oxydierten Wasserstoff muß einer späteren Untersuchung vorbehalten bleiben.

Die im folgenden beschriebenen Versuche zeigen, daß das Verhältnis $\text{H}_2 : \text{O}_2$ ein inkonstantes ist und sich gegen Ende des Prozesses dem Verhältnis $2 : 1$ nähert.

Am 8. März wurden mehrere geschlossene Gärkölbchen mit einer Reinkultur von *B. p.* und Gas beschickt. Mit der Analyse der Gasreste wurde begonnen, als sich, wie oben beschrieben, die Oxydation des Wasserstoffes durch das ruckweise Absetzen der Volumverminderung beendet zeigte. Tatsächlich war auch in jenem Moment kein Wasserstoff mehr vorhanden.

Kölbchen 28. Eingefüllt 8. März 7,0 ccm CO_2 , 19,0 ccm H_2 , 10,2 ccm O_2 . Am 30. März zeigte ein Kontrollkölbchen Formaldehyd. 30. März Rest 3,3 ccm Gas, davon CO_2 0,8 ccm, O_2 2,1 ccm, N_2 0,4 ccm. Da die 0,4 ccm N_2 (+ 0,1 ccm O_2) wahrscheinlich dem Wasserstoff beigemischt waren, da ferner der Sauerstoff 5 Proz. Wasserstoff enthielt, ergibt sich:

| | | |
|-------------------------|------------------------|----------------------|
| Eingefüllt | H_2 19,0 ccm, | O_2 9,8 ccm |
| verbraucht | H_2 19,0 " | O_2 7,7 " |
| Verhältnis $2 : 0,81$. | | |

Kölbchen 16. Eingefüllt 6,0 ccm CO_2 , 11,8 ccm O_2 , 17,4 ccm H_2 , am 3. April Rest CO_2 0,9 ccm, O_2 3,8 ccm, N_2 0,2 ccm.

| | | |
|-------------------------|----------------------|-----------------------|
| Somit eingefüllt | H_2 18 ccm, | O_2 11,2 ccm |
| verbraucht | H_2 18 " | O_2 7,4 " |
| Verhältnis $2 : 0,82$. | | |

Formaldehyd im Kontrollkölbchen vorhanden.

Kölbchen 23. Eingefüllt 7,0 ccm CO_2 , 16,5 ccm H_2 , 12,7 ccm O_2 , am 11. April Rest CO_2 0,5 ccm, O_2 4,0 ccm, N_2 0,4 ccm.

| | | |
|-------------------------|------------------------|-----------------------|
| Somit eingefüllt | H_2 16,6 ccm, | O_2 12,2 ccm |
| verbraucht | H_2 16,6 " | O_2 8,2 " |
| Verhältnis $2 : 0,99$. | | |

Formaldehyd im Kontrollkölbchen nicht vorhanden.

Das Verhältnis $H_2 : O_2$ war somit:

| | |
|---------------|----------|
| nach 22 Tagen | 2 : 0,81 |
| " 26 " | 2 : 0,82 |
| " 34 " | 2 : 0,99 |

Unter Berücksichtigung der unvermeidlichen Versuchsfehler und der an sich zwar expeditiven und verwendbaren, aber doch nicht absolut genauen Methode, die Gase beim Einfüllen im Kölbchen selbst zu messen und den Gasrest im Kölbchen selbst zu analysieren, sind die Resultate befriedigend.

Versuche, ob *B. p.* auch befähigt ist, bei Gegenwart organischer Substanz Wasserstoff zu oxydieren, haben ergeben, daß dies nicht der Fall ist. Der Organismus lebt in diesem Falle auf Kosten der organischen Substanz, welche ihm ja, wie schon früher erwähnt, in fast jeder Form zur Nahrung dienen kann. Organische Substanzen dagegen, die wie Cellulose unlöslich sind und dem Mikroben nicht zur Nahrung dienen können, haben keinen Einfluß auf die Oxydation des Wasserstoffes.

Methan und Kohlenoxyd können dem *B. p.* nicht als Nahrung dienen.

Schließlich sei noch erwähnt, daß der Mikrobe bei autotropher Lebensweise Ammon dem Nitrat als Stickstoffquelle vorzieht und bei Gegenwart von Calciumkarbonat in den Nährlösungen und Platten erheblich langsamer wächst.

7. Das Verhalten von *Bacillus oligocarbophilus* zu Wasserstoff.

Wie schon in der Einleitung kurz erwähnt, haben Beijerinck und van Delden vor einiger Zeit aus Ackererde einen Mikroben isoliert, der auf Flüssigkeiten und auf Kieselsäureplatten ohne organische Substanz auf Kosten eines in der Luft enthaltenen Stoffes in Form trockener, schwer benetzbarer Häute wächst, die unter dem Mikroskop ein Aggregat äußerst kleiner unbeweglicher Bakterien darstellen. Dieses merkwürdige Lebewesen scheint besonders nur an der Laboratoriumsluft zu wachsen, weniger gut an freier, reiner Luft. Die Reinkultur macht, wenn man die nötige Geduld aufwendet, keine besonderen Schwierigkeiten. Die Entdecker meinten, daß der Organismus sich von einem durch Karsten und später durch Henriet in der Luft vorgefundenen gasförmigen Stoffe, der nach Henriet auch Stickstoff enthalten soll, nähre.

Der von G. Volpino¹⁾ aus Erde isolierte Organismus, der Kohlenstoff und Stickstoff aus Luft entnehmen kann, scheint eine verunreinigte Kultur von *B. oligocarbophilus* gewesen zu sein.

Wie schon oben angeführt, konnte ich feststellen, daß die in Wasserstoff oxydierenten Rohkulturen vorkommenden Bakterienhäute fast ausschließlich aus *Bacillus oligocarbophilus* bestanden. Es wollte mir jedoch niemals gelingen, eine Reinkultur dieser Bakterien zu züchten, die Wasserstoff oxydierte, sondern es ergab sich stets folgendes Bild:

Entweder das beimpfte Röhrchen zeigte mit oder ohne Hautbildung Oxydation von Wasserstoff, dann fanden sich regelmäßig auch auf Gelatine wachsende Organismen in der Kultur;

oder die Kultur war gegen Gelatine steril, dann oxydierte sie keinen Wasserstoff, sondern es wuchs zuerst nach etwa einer Woche auf der äußeren und nach längerer Zeit auch auf der inneren Flüssigkeitsoberfläche ein Häutchen von *B. obligocarbophilus*. Um ganz sicher

1) Referat darüber: Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. p. 70

zu gehen, isolierte ich nach Beijerincks Vorschrift den Mikroben aus Ackererde. Das Resultat war dasselbe: Rohkulturen oxydierten kräftig Wasserstoff, Reinkulturen absolut nicht.

Nachdem ich durch wiederholt angelegte Gelatineplatten mich überzeugt hatte, daß *Bacillus pantotrophus* nicht vorhanden war, versuchte ich es, die Begleiter des *Bacillus oligocarophilus* zu isolieren und allein oder mit *B. oligocarophilus* gemengt auf ihr Verhalten gegen Wasserstoff zu prüfen. Aber trotz zahlreicher Versuche gelang es mir nicht, einen sicheren Erfolg zu erzielen; einmal oxydierte die Mischkultur Wasserstoff, dann wieder nicht. *Bacillus methylicus* Löw + *B. oligocarophilus* oxydierte wohl in offenen Gärkölbchen meist Wasserstoff, auch andere Organismen (Fluoreszenten) ließen sich zur Symbiose verwenden. Da aber der *B. oligocarophilus* seine Launenhaftigkeit auch in Mischkulturen beibehielt, und, wie schon Beijerinck feststellte, auch gegen Kohlensäure eine entschiedene Abneigung besitzt, war es mir nicht möglich, mit geschlossenen Gärkölbchen genauere Versuche anzustellen. Rohkulturen wuchsen in der Kohlensäureknallgasatmosphäre nur sehr langsam, obwohl eben dieselben Rohkulturen in offenen Gärkölbchen heftig Wasserstoff oxydierten, allerdings nur dann, wenn man wenig Kohlensäure zusetzte. Diese Mißerfolge werden mich nicht abhalten, weitere Versuche mit dem widerpenstigen Organismus anzustellen, um schließlich, vielleicht unter Verwendung anderer Nährböden, doch exakte und beweisende Versuche anstellen zu können. Wenn man allerdings bedenkt, wie empfindlich der Mikrobe nach den Befunden Beijerincks, die ich in jeder Beziehung bestätigen kann, gegen organische Substanz ist, und daß andererseits, wie im vorhergehenden Kapitel erwähnt, sich in einer Flüssigkeit, die Kohlensäure und Wasserstoff enthält, Formaldehyd schon ohne Katalysator in äußerst geringen Spuren zu bilden scheint, so darf es uns nicht wundernehmen, wenn der Mikrobe in Reinkultur, wo also keine Begleiter da sind, die nicht nur diese auf chemischem Wege entstandene organische Substanz, sondern auch die vielleicht durch den Organismus selbst ausgeschiedene organische Substanz seiner Stoffwechselprodukte fortwährend beseitigen, nicht zum Wachsen zu bringen ist.

Mit dieser Anschauung steht die Tatsache im Einklang, daß größere Kohlensäuregaben, die bei *Bacillus pantotrophus* sich als unbedingt nötig erwiesen, auch bei Rohkulturen von *B. oligocarophilus* die Oxydation des Wasserstoffes in offenen Kölbchen stark herabsetzten, oftmals sogar verhinderten. Auch auf der Platte wuchsen die Reinkulturen von *Bacillus oligocarophilus* nur an der Luft, niemals in Knallgasatmosphäre. Wenn ich dennoch die eingangs erwähnte Behauptung, daß der *Bacillus oligocarophilus* die Oxydation des Wasserstoffes nach dem Schema 2 vornehme, aufstellte, so geschah dies deshalb, weil das Verhalten des *B. oligocarophilus* zu Kohlenoxyd dies in hohem Grade wahrscheinlich machte.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Der feinere Bau der Saccharomycetenzelle.

[Eine kurze zusammenfassende Uebersicht.]

(Botanisches Institut der k. k. Technischen Hochschule in Graz.)

Von Dr. **Franz Fuhrmann,**

Privatdozent an der Technischen Hochschule zu Graz.

(Schluß.)

Nach den Untersuchungen von Wager (95) verlaufen die Vorgänge der Teilung der chromatischen Substanz und der Bildung der Sporenkerne bei *Saccharomyces cerevisiae*, *S. Ludwigii*, *S. Pastorianus* etwas einfacher. Das in dem Cytoplasma verteilte Chromatin wird vom Nucleolus aufgenommen, der sich dann durch Verlängerung und Einschnürung in zwei Tochterkerne teilt. Dabei soll sich die Chromatinsubstanz nach Färbungen durch besonders dunkle und intensive Tinktion auszeichnen und die stark gefärbten Chromatinkörnchen durch eine schwach gefärbte Substanz längere Zeit verbunden bleiben. Es könnte sich also um ein intermediäres Stadium der Karyokinese handeln. Eine weitere Teilung vermehrt die Anzahl der Nucleoli auf 4 und mitunter mehr. Jeder einzelne Nucleolus umgibt sich dann mit Protoplasma und einer feinen Sporenhaut. Nun wächst die Sporenanlage durch Stoffaufnahme aus dem Plasma heran und es entsteht die spätere derbe, stark lichtbrechende Sporenmembran, wie Janssens und Leblanc (l. c.) genau studiert haben.

Guilliermond hat sich ganz besonders mit der Sporenbildung von *Saccharomyces Ludwigii* beschäftigt und gibt dafür folgendes an:

Zuerst findet eine Zweiteilung des Kernes in nicht immer gleichgroße Teilstücke statt, die sich gegenüber an der Längsachse der Zelle einstellen und mit einer Hülle von Zellplasma umgeben. Der ganze Zellinhalt teilt sich dann, schließt je einen Tochterkern ein und bleibt durch mehrere Plasmastränge oder Fäden in Verbindung. Nun erfolgt eine Teilung jedes Tochterkernes, wobei aber die Teilstücke nicht mehr weit auseinanderrücken. Diese letzten Teilungsprodukte umgeben sich mit einer dünnen Plasmahaut, die nach Art einer Kalotte die Sporenanlage nur teilweise umgibt. Dann kommt es zur Ausbildung der Sporenmembran.

Nach den Beobachtungen von Will (104) sind die Sporenanlagen von Bierhefen anfangs meistens von einer großen Anzahl von Granula umgeben, die zum größten Teil fettartiger Natur sind und nur zum kleineren Teil die Glykogenreaktion geben. Die nicht verbrauchten Granula bleiben noch in den von den Sporen freigelassenen Räumen des Ascus eingepreßt zwischen den Sporenhüllen liegen und sind mit Ursache für das starke Lichtbrechungsvermögen der Berührungsstellen der Wandungen.

Ganz allgemein leitet also die Sporenbildung eine Kernteilung ein und es erfolgt dann eine Aufteilung des Cytoplasma samt seinen Inhaltkörpern. Entsprechend den Kernteilungen müßte immer eine gerade Anzahl von Sporen gebildet werden. Dem ist jedoch nicht so, denn wir finden in einer Zelle oft nur 1 Spore, mitunter

auch 2 und mehr. Will erklärt diese Erscheinung damit, daß nicht aus jedem Kernteilstück eine reife Spore entsteht oder daß sich um irgend einen Kernteil überhaupt keine Sporenanlage gebildet hat. Endlich erwähnt Will auch die Möglichkeit, daß ein Tochterkern in einen jungen Sproß der Sporenmutterzelle auswandern könne. Das Letztere erscheint mir unwahrscheinlich, da der Teilungsmodus für die Kerne der Sporenbildung anders zu sein scheint als für die Sproßbildung, wobei sich die Teilung sehr stark dem Typus der Karyokinese nähert oder vollständig danach geschieht.

C. Die Sporen.

Die reifen Sporen sind bei den einzelnen Saccharomyceten verschieden groß, ja bei ein und derselben Art und selbst in der gleichen Sporenmutterzelle können Größenunterschiede derselben auftreten. Die Sporenhaut ist derb und umgibt in einer Schicht den Sporenhalt bei der Gattung I, *Saccharomyces* Mayen, Gattung II, *Zygosaccharomyces* Barker, Gattung III, *Saccharomyces* E. Chr. Hansen, Gattung V, *Pichia* E. Chr. Hansen und Gattung VI, *Willia* E. Chr. Hansen, während sie bei der Gattung IV, *Saccharomycopsis* Schönning aus zwei Schichten besteht. (Vergl. E. Chr. Hansen [39].)

Die Gestalt und Form der Sporen ist verschieden und für die von E. Chr. Hansen zusammengefaßten Gattungen ziemlich einheitlich. Im allgemeinen besitzen sie eine rundliche, mitunter kreisrunde oder mehr ovale Form. *Pichia membranaefaciens* bildet Sporen, die in der Jugend eine halbkugelige Gestalt besitzen, während die älteren Sporen eine eckige und ungleichmäßige Form aufweisen. *Saccharomyces anomalus* E. Chr. Hansen (Hansen 38), jetzt *Willia anomala*, erzeugt Sporen, die halbkugelig sind und an ihrer Grundfläche eine vortretende Leiste aufweisen, also eine an einen Hut erinnernde Gestalt besitzen. Die Sporen von *Willia Saturnus* [*Saccharomyces Saturnus* Klöcker (58, 59)], sind zitronenförmig und besitzen eine von Spitze zu Spitze verlaufende Leiste. Die Sporen der übrigen Saccharomyceten lassen in ihrer Form keine so ausgeprägten Unterschiede erkennen.

Der Sporenhalt weist bei den verschiedenen Arten auch einige Unterschiede in seinem Bau auf. Wie Hansen beobachtete, ist das Plasma der Kulturhefen im allgemeinen mehr vakuolisiert und weniger lichtbrechend als der Sporenhalt von wilden Hefen.

Die Sporen von *Willia Saturnus* enthalten in der Mitte ein glänzendes großes Korn, wahrscheinlich fettartiger Natur. Im ungefärbten Zustand gewahrt man in dem Sporenplasma für gewöhnlich keine besonders ausgesprochene Differenzierung der Inhaltbestandteile. Erst Färbungen heben diese gut hervor. Wie schon aus den Angaben von Wager (95) und Hoffmeister (46) und Beyerinck (5) für den den Saccharomyceten nicht beizuzählenden *Schizosaccharomyces Octosporus* erhellt, beherbergt die Spore einen Kern, von dem aus eine Plasmastrahlung ausgeht, die eine Kammerung oder Vakuolisierung des Zellinhaltes bedingt. Der Kern besitzt eine wandständige Lage. Im Sporenplasma finden sich noch Granula, gewöhnlich in geringer Menge, die sich mit Osmiumsäure schwärzen und wahrscheinlich fettartiger Natur sind. Mitunter gelingt

es auch, in kleinen Plasmabezirken der Spore Glykogen nachzuweisen. [Vergl. auch Will (104).]

Die reifen Sporen keimen im allgemeinen nach zwei Typen, entweder durch Sprossung oder durch Keimschlauchbildung, wenn die Bedingungen für eine Weiterentwicklung gegeben sind. Bei der Keimschlauchbildung wird zuerst ein wurstförmiges Gebilde getrieben, welches als Promycel bezeichnet wird und weiterhin Sprosse bildet. Bei Promycelbildungen kommt es häufig zu Zellfusionen, wie Hansen an *Saccharomyces Ludwigii* zeigte und wie Guilliermond später bestätigte. Die von zwei Sporen getriebenen Keimschläuche verschmelzen, so daß das Promycel eigentlich aus zwei Sporen hervorging. Dabei findet gleichzeitig eine Fusionierung der beiden Kerne statt, wie neuerdings Guilliermond (Compt. rend. de l'Acad. Sc. 1904) angibt.

Sowohl die Fusionen von keimenden Sporen als auch die Kernverschmelzung im Sinne Janssens vor der Kernteilung bei der Sporenbildung legen den Gedanken an eine Sexualität der Saccharomyceten nahe; besonders die Untersuchungen von Barker (2) an *Zygosaccharomyces* Barker haben gezeigt, daß auch vor der Sporenbildung eine Verschmelzung von Zellen statthaben kann, wenn dabei eine Kernfusion auch nicht mit voller Sicherheit beobachtet werden konnte. Es ist hier nicht der Ort, auf diese höchst interessanten Fragen näher einzugehen und es sei diesbezüglich auf die Originalarbeiten und die zusammenfassende Uebersicht von Jahn (48, 49) verwiesen. Die Keimungsverhältnisse der Saccharomycetensporen, überhaupt die Entwicklungsgeschichte der Saccharomyceten und Schizosaccharomyceten fand eine eingehende und treffende Darstellung durch Klöcker im 4. Band des Handbuches der technischen Mykologie von Lafar.

Litteraturverzeichnis.

- 1) Albert, R. u. W., Chemische Vorgänge in der abgetöteten Hefezelle. (Centralbl. für Bakt. Abt. II. Bd. VII. 1901.)
- 2) Barker, C., A conjugating „Yeast“. (Philosoph. Transact. of the Royal Soc. of London, S.B. Vol. LXVIII. 1901. Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903.)
- 3) —, On spore formation among the saccharomycetes. (Journ. of the Federat. Inst. of Brewing. Vol. VIII. 1902. Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903.)
- 4) Becker, C., Ueber Schichtung und Färbbarkeit der Membran der Hefezellen. (Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. Bd. XXII. 1899. Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VI. 1900.)
- 5) Beyerinck, M. W., Schizosaccharomyces octosporus, eine achtsporige Alkoholhefe. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1894.)
- 6) Bouin, M., Contribution à l'étude du noyau des levures. (Arch. d'Anat. microscop. T. I. 1898.)
- 7) Brefeld, Botanische Untersuchungen über Hefezellen. Leipzig. 1883. H. 5.
- 8) Brücke, E., Die Elementarorganismen. (Sitzungsb. d. kais. Akad. d. Wissensch. Wien. Mathem.-naturw. Kl. Abt. II. Bd. XLIV. 1861.)
- 9) Buscalioni, L., Il Saccharomyces guttulatus Rob. (Malpighia. Jahrg. X. 1896.)
- 10) — und Casagrandi, O., Sul Saccharomyces guttulatus (Rob.), nuove osservazioni. (Malpighia. Jahrg. XII. 1898. Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. V. 1899.)
- 11) Casagrandi, O., Ueber die Morphologie der Blastomyceten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. III. 1897.)
- 12) Curtis, Contribution à l'étude de la saccharomycose humaine. (Annal. de l'Inst. Pasteur. T. X. 1896.)
- 13) Dangeard, P. A., Sur la structure histologique des levures et leur développement. (Compt. rend. de l'Acad. sc. Paris. T. CXVII. 1893. Le Botaniste. 1894.)
- 14) De Bary, Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze. Leipzig 1884.
- 15) Duclaux, Sur la conservation des levures. Annal. de l'Inst. Pasteur. T. III. 1889. Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VI. 1889.)
- 16) Eisenschitz, S., Beiträge zur Morphologie der Sproßpilze. Dissert. Bern. [Wien] 1895.

- 17) Eisenschitz, Ueber die Granulierung der Hefezellen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. I. 1895.)
- 18) Ernst, P., Ueber Kern- und Sporenbildung in Bakterien. (Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskr. Bd. V. 1889.)
- 19) —, Ueber den Bau der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1902.)
- 20) Erréra, L., Annales of Botany. Vol. XII. 1898.
- 21) Feinberg, L., Ueber den Bau der Hefezellen und über ihre Unterscheidung von einzelligen tierischen Organismen. (Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. XX. 1902.)
- 22) Fischer, Alfred, Untersuchungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Jena 1897.
- 23) —, Bernhard, Ueber einen neuen bei Kahmhautpilzen beobachteten Fortpflanzungsmodus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XIV. 1893.)
- 24) Fuhrmann, F., Die Kernteilung von *Saccharomyces ellipsoideus* I Hansen bei der Sproßbildung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905.)
- 25) Guilliermond, A., Compt. rend. hebdomad. de l'Acad. Sc. Paris. T. CXXXII. 1901.
- 26) —, Recherches histologiques sur la sporulation des schizosaccharomycètes. (Compt. rend. hebdomad. de l'Acad. Sc. Paris. T. CXXXIII. 1901. Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902.)
- 27) —, Recherches cytologiques sur les levures et quelques moisissures à forme levure. Lyon 1902. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903.)
- 28) —, Observations sur la germination des spores du *Saccharomyces Ludwigii*. (Compt. rend. de séanc. de l'Acad. des Sc. 1902. Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903.)
- 29) —, Sur la présence des corpuscules métachromatiques dans le bactéries. (Lyon médical. 1902. Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903.)
- 30) —, Remarques sur la copulation du *Schizosaccharomyces mellacei*. (Annal. de la Soc. de Botanique de Lyon. 1903. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903.)
- 31) —, Recherches cytologiques sur les levures. (Revue génér. de Botanique. T. XV. 1903. Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904.)
- 32) — Sur le noyau de la levure. (Annales mycologici. Vol. II. 1904. (Ref. Centralblatt f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904.)
- 33) —, La morphologie et la cytologie des levures. (Bullet. de l'Inst. Pasteur. T. III. 1905.)
- 34) Hansen, E. Chr., Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques. II. Ascospores chez le genre *Saccharomyces*. (Compt. rend. de travaux du Laborat. de Carlsberg. 1883.)
- 35) —, Vorläufige Mitteilungen über Gärungspilze. (Botan. Centralbl. Bd. XXI. 1885.)
- 36) —, Les voiles chez le genre *saccharomyces*. (Compt. rend. de Carlsberg. T. II. 1886.)
- 37) —, Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques, V. (Resum. de compt. rend. de travaux du laborat. Carlsberg. T. II. 1886.)
- 38) —, Desgl. VIII, Sur la germination des spores chez les *Saccharomyces*. (Ebendort T. III. 1891.)
- 39) —, Grundlinien zur Systematik der *Saccharomyceten*. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904.)
- 40) Henneberg, W., Ueber das Vorkommen von Glykogen bei Brennerei-, bei Preßhefen und obergärigen Brauereihefen. (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. Bd. XXV. 1902. Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902.)
- 41) —, Abnorme Zellformen von Brennereihefen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904.)
- 42) Henneguy, Leçons sur la cellule. Paris 1896.
- 43) Hieronymus, G., Ueber die Organisation der Hefezellen. (Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. XI. 1893.)
- 44) Hirschbruch, A., Die Fortpflanzung der Hefen. I. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902.)
- 45) —, Die Fortpflanzung der Hefezelle. II. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902.)
- 46) Hoffmeister, C., Zum Nachweis des Zellkernes bei *Saccharomyces*. (Sitzungsber. d. deutsch. naturw.-med. Ver. f. Böhmen „Lotos“ in Prag. Jg. 1900 N. F. Bd. XX.)
- 47) Istvánffy, v. Gy., Ueber die Rolle der Zellkerne bei der Entwicklung der Pilze. (Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. XIII. 1895. Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. II. 1896.)
- 48) Jahn, E., Die Morphologie der Hefe und die Entdeckung ihrer Sexualität. (Naturwiss. Rundschau. 1902.)
- 49) —, Der Zellbau und die Fortpflanzung der Hefe. (Archiv f. Protistenkunde. 1903.)
- 50) Janssens, Fr. A., Beiträge zu der Frage über den Kern der Hefezelle. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XIII. 1893.)
- 51) —, A propos du noyau de la levure. (La Cellule. T. XX. 1903. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903.)

- 52) Janssen, Fr. A. und Leblanc, Recherches cytologiques sur la cellule de levure. (La Cellule. T. XIV. 1898. Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IV. 1898.)
- 53) — und Mertens, A., Étude microchimique et cytologique d'une Torula rose. (La Cellule. T. XX.)
- 54) Jörgensen, A., Die Mikroorganismen in der Gärungsindustrie. Berlin 1892.
- 55) Kayser, E., Die Hefe. München und Leipzig 1898.
- 56) Klöcker, A., Die Gärungsorganismen in Theorie und Praxis der Alkoholgärungsgewerbe. Stuttgart 1900.
- 57) —, Recherches sur les Saccharomyces Marxianus, Saccharomyces apiculatus et Saccharomyces anomalus. (Compt. rend. de Carlsberg. T. IV. 1895.)
- 58) —, Eine neue Saccharomycesart (Sacch. Saturnus mihi) mit eigentümlichen Sporen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1902.)
- 59) —, Une espèce nouvelle de Saccharomyces: Saccharomyces Saturnus Kl., ayant des spores caractéristiques. (Compt. rend. de Carlsberg. T. VI. 1903.)
- 60) Kossel, A., Ueber das Nuklein der Hefe. (Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. III. 1879.)
- 61) Krasser, F., Ueber den Zellkern der Hefe. (Oesterr. bot. Ztschr. 1893.)
- 62) —, Ueber das angebliche Vorkommen eines Zellkernes in den Hefezellen. (Ebendort 1885.)
- 63) Küster, E., Zur Kenntnis der Bierhefe. (Biolog. Centralblatt. Bd. XVIII. Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. V. 1899.)
- 64) Kunstler, J. und Busquet, M., Compt. rend. de l'Acad. Sc. Paris. T. CXXV. 1897.)
- 65) Lindner, P., Mikroskopische Betriebskontrolle. 1. Aufl. Berlin 1895.
- 66) —, Mikroskopische Betriebskontrolle. Berlin 1905.
- 67) —, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. II. 1896.
- 68) Macallum, A. B., On the distribution of assimilated iron compounds, other than Haemoglobin and Haematins. (Quarterly Journ. of microsc. Science. Vol. XXXVIII. 1896.)
- 69) Maffucci und Sirleo, Neuer Beitrag zur Pathologie eines Blastomyceten. (Centralbl. f. allgem. Pathologie und pathol. Anat. Bd. VI. 1895.)
- 70) Mann, Transact. and Proceed. of the Royal Brit. Soc. Edinburgh 1892.
- 71) Marpmann, Ueber Hefen und über den Zellkern bei Saccharomyceten und Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902.)
- 72) Moeller, H., Ueber den Zellkern und die Sporen der Hefe. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XII. 1892.)
- 73) —, Weitere Mitteilungen über den Zellkern und die Sporen der Hefe. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XIV. 1894.)
- 74) —, Neue Untersuchungen über den Zellkern und die Sporen der Hefen. (Berichte d. deutsch. bot. Ges. Bd. XI. 1893.)
- 75) Naegeli, C. von, In Naegeli und Schleiden: Zeitschr. f. wissensch. Botanik. 1844. Bd. I.
- 76) — und Schwendener, Das Mikroskop. Leipzig 1877.
- 77) Nêmec, B., Ueber den Bau der Bakterien, Hefepilze und Cyanophyceen. [Tschechisch.] Ziva, Prag 1901.
- 78) Osterwalder, Beitrag zur Morphologie einiger Saccharomycesarten, insbesondere unserer Obstweihen. (Landwirtsch. Jahrb. d. Schweiz. 1903. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906.)
- 79) Rees, Botanische Untersuchungen über die Alkoholgärungspilze. 1870.
- 80) Raum, J., Zur Morphologie und Biologie der Sproßpilze. (Zeitschrift f. Hygiene und Infektionskr. Bd. X. 1891.)
- 81) Raýmann und Kruis, Des noyaux des bactéries. (Bull. int. de l'Acad. des Sc. de Bohême. 1903.)
- 82) Rosen, Beiträge zur Kenntnis der Pflanzenzelle. (Cohns Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Bd. VI.)
- 83) Schander, R., Jahresbericht der Vereinigung der Vertreter der angewandten Botanik. 1903/04. Bd. II.
- 84) Schiöning, H., Nouvelle et singulière formation d'ascus dans une levure. (Compt. rend. de Carlsberg. Bd. IV. 1895. Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. I. 1895.)
- 85) —, Nouveau genre de la famille des saccharomycètes. (Compt. rend. de Carlsberg. T. VI.)
- 86) Schleiden, M. J., Grundzüge der wissenschaftlichen Botanik. 3. Aufl. 1849.
- 87) Schmitz, Ueber den Zellkern der Thallophyten. (Verhandl. d. naturhist. Ver. d. preuß. Rheinlande und Westfalens. Bonn 1879. 4. F. Jg. VI und ebendort 1880. Jg. VII.)

- 88) Schumacher, Beiträge zur Morphologie und Biologie der Hefe. (Sitzungsber. d. kais. Akademie d. Wissensch. Wien. Abt. II. 1874. Bd. LXX.)
- 89) Stecksén, Studier öfver Curtis Blastomycet fran svuls-etnologisk synpunkt. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXIX. 1901.)
- 90) Strasburger, Das botanische Praktikum. Jena 1889.
- 91) Swan, A. P., On the endospore formation and general description of a red yeast. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. II. 1896.)
- 92) Swellengrebel, M., Sur la division nucléaire de la levure pressée. (Annal. de l'Inst. Pasteur. T. XIX. 1905.)
- 93) Symmers, Note on a peculiar movement of certain intracellular practicles in yeast cells. (Transact. Brit. Inst. of prevent. medicin. London. No. 1.)
- 94) Trommsdorff, R., Ueber die Beziehungen der Gramschen Färbung zu chemischen Vorgängen in der abgetöteten Hefezelle. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1902.)
- 95) Wager, H., The nucleus of the Yeast plant. (Rep. of the Brit. Assoc. Toronto. 1897. (Annals of Botany. 1898. Bd. XII. Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. V. 1899.)
- 96) Wasserzug, Sur les spores chez les levures. (Centralbl. f. Bakt. Bd. IV. 1888.)
- 97) Wiesner, J., Untersuchungen über den Einfluß, welchen Zufuhr und Entziehung von Wasser auf die Hefezellen äußern. (Sitzungsber. d. kais. Akad. d. Wissensch. Wien. Abt. II. Bd. LIX. 1869.)
- 98) —, Anatomie und Physiologie der Pflanzen. Wien 1890.
- 99) Wilhelmi, A., Beiträge zur Kenntnis des Saccharomyces guttulatus (Buscalioni). (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IV. 1898.)
- 100) Will, H., Die Hefenzelle, deren Aussehen und Beschaffenheit in den verschiedenen Stadien der Entwicklung und des Zerfalles unter dem Mikroskop. (Allg. Brauer- u. Hopfenztg. 1892.)
- 101) —, Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. (Zeitschrift f. d. ges. Brauwesen. Bd. XVIII. 1895.)
- 102) —, Ueber einen ungeformten Eiweißkörper, welcher der untergärigen Bierhefe beigemischt ist und dessen Beziehungen zu dem sogenannten gelatinösen Netzwerk, welches beim Eintrocknen der Bierhefe entsteht, nebst einigen Beobachtungen über Netzbildung in der Kahlhaut. (Zeitschrift f. d. gesamte Brauwesen. Bd. XX. 1897. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IV. 1898.)
- 103) —, Eine Mycodermaart und deren Einfluß auf Bier. [2. Mitteilung.] (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. Bd. XXIII. 1900. Siehe auch d. Zeitschr. 1899.)
- 104) —, Anatomie der Hefezelle in Lafars Handbuch der technischen Mykologie. Bd. IV.
- 105) Zacharias, Botanische Zeitung. 1887.
- 106) Zalewski, Ueber Sporenbildung in Hefezellen. (Ref. Botanisch. Centralbl. 1886. Bd. XXV.)
- 107) Zettnow, Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskr. Bd. XXX. 1899.
- 108) Ziemann, Neue Untersuchungen über die Malaria und den Malariaerregern nahestehenden Blutparasiten. (Deutsche med. Wochenschr. 1898.)
- 109) Zikes, H., Ueber Anomalushefen und eine neue Art derselben (Willia Wichmanni). (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906.)
- 110) Zimmermann, A., Die Morphologie und Physiologie der Pflanzenzelle. Breslau 1887.
- 111) —, Morphologie und Physiologie des pflanzlichen Zellkernes. Jena 1896. p. 128.
- 112) —, Beihefte zum bot. Centralbl. Bd. III. 1893.
- 113) Bokorny, Th., Ueber das Aufsammlungsvermögen der Hefe für Farbstoffe und gewisse Schwermetallsalze. (Allg. Brauer- und Hopfenztg. 1905.)
- 114) Sanfelice, Ann. Igiene. Roma 1894.

*Nachdruck verboten.***Einige Beiträge zur mikrobiologischen Bodenkunde¹⁾.**

[Vorläufige Mitteilungen aus der bakteriologischen Abteilung der agrikulturn-chemischen Versuchsstation Halle a. S.]

Von Dr. **Berthold Heinze.**

(Schluß.)

Danach scheint es, wenn die eventuell gemeinschaftlich sich entwickelnden Organismen (*Nostoc* und andere Bodenorganismen) nur auf Kosten von Kohlenhydraten gedeihen können, welche bei eintretender Hydrose d-Glykose liefern.

Durch möglichst modifizierte Versuche müssen natürlich die eben erörterten Erscheinungen erst mehr geklärt werden.

Nachdem Krüger und der Verf. auf Veranlassung der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft umfangreichere Untersuchungen über die Brache in Angriff genommen hatten, wurde von ihnen u. a. besonders auch ein eingehenderes Studium über die etwaigen Veränderungen des Gesamtstickstoffes sowie der löslichen N-Verbindungen (Amide, Ammoniak, Salpeter) bei Brachbearbeitung ins Auge gefaßt.

In direktem Zusammenhange mit den speziellen Untersuchungen über die etwaige mehr oder weniger intensive Verarbeitung des elementaren N der Luft durch verschiedene niedere pflanzliche Organismen wurden nun auch Kulturen angelegt, um die etwaige diesbezügliche Fähigkeit bei blaugrünen Algen einer genaueren Prüfung zu unterziehen, nachdem bereits von Krüger u. A. genügend sichergestellt worden war, daß chlorophyllgrüne Algen (*Chlorophyceen*) unter den für gewöhnlich innegehaltenen Bedingungen in sogenannten N-freien bzw. N-armen sich zu keiner nennenswerten Vegetation zu entwickeln und auch keinen freien N zu binden vermögen, und daß es weiterhin zu einer N-Assimilation bei den grünen Algen bisher auch nicht kam, wenn denselben zur einigermaßen freudigen Entwicklung zunächst gewisse Mengen von geeigneten N-Verbindungen zur Verfügung gestellt wurden.

Für etwaige Vegetationen blaugrüner Algen wurden zunächst die folgenden kohlenhydratfreien Nährböden verwandt:

Lösung I: 2,0 g KH_2PO_4
0,4 g MgSO_4
0,2 g CaCl_2
20 Tropfen FeCl_3 (10-proz. Lösung)
1000 ccm Wasser (aa. dest.)

Lösung IIa: Wie Lg. I, nur statt KH_2PO_4 : } mit H_2SO_4 angesäuert
2,0 g K_3PO_4 } und mit Soda neutralisiert

Lösung IIb: Wie Lg. I, nur statt KH_2PO_4 : 2,0 g K_2HPO_4 .

Lösung III: Wie Lg. I, nur statt $\text{K}_1\text{H}_2\text{PO}_4$: 2,0 g K_3PO_4 .

Diese Lösungen (pro Kultur 100 ccm) wurden mit je 1 ccm einer Bodenaufschwemmung (1 g Boden 100 ccm dest. steril. H_2O) verschiedener Bracherdeproben eines Feldstückes mit Caronscher Fruchtfolge und eines Feldstückes mit anderer Fruchtfolge geimpft.

Sämtliche Kulturen wurden mindestens dreifach angesetzt; selbst nach länger als halbjähriger Kulturzeit konnte eine auch nur einiger-

1) Anmerkung: Die verwertete Litteratur findet sich am Schlusse der vorliegenden Mitteilung zusammengestellt.

maßen reichliche Cyanophyceenvegetation nicht beobachtet werden, auch nicht bei wiederholtem Ueberimpfen in ein und dieselbe Kulturflüssigkeit, also mit Hilfe des sogenannten Anreicherungsverfahrens.

Es wurde deshalb zunächst auch davon Abstand genommen, überhaupt einige besondere N-Bestimmungen vorzunehmen, da ja nach mancherlei anderweitigen Erfahrungen schon der bloße Augenschein lehrte, daß unter solchen Umständen und bei derartigen kümmerlichen Vegetationen sich eine eventuelle geringe N-Zunahme nicht mit Sicherheit würde feststellen lassen.

Neben *Gloeocapsa*-artigen, *Chroococcaceen*-artigen Algenformen wurden übrigens in sämtlichen Kulturen vorwiegend *Nostoc*-formen (eine mehr großzellige und eine kleinzellige Form) angetroffen; am kümmerlichsten entwickelt waren die KH_2PO_4 -Kulturen, auch fanden sich in diesen mehr fadenförmige Algen neben *Nostoc* vor; ganz vereinzelt enthielten sämtliche Kulturen auch grüne Algenzellen, die wahrscheinlich durchweg von Impfmateriale herrührten, auf alle Fälle aber in keiner irgendwie nennenswerten Weise in den angewandten Nährlösungen sich entwickelt haben dürften. Vielfach wurde auch reichlichere Pilzentwicklung und namentlich von *Streptothrix*-artigen Pilzen wahrgenommen.

Eine augenscheinlich bessere Entwicklung von *Nostoc* trat erst ein, als Verf. aus den K_2HPO_4 -Kulturen (L. II b) der verschiedenen Bracherdeproben in dieselbe Nährlösung — aber mit einem Zusatz von 1,0 Proz. CaCO_3 — überimpfte. Durchweg zeigte sich schon nach relativ kurzer Zeit (1—2 Monaten) eine leidlich gute Cyanophyceenvegetation unter Vorherrschen der größeren *Nostoc*-formen. Nach ungefähr einem Jahre wurde in diesen Rohkulturen mit mäßig reichlicher Pilzentwicklung der Gesamtstickstoff bestimmt.

Aus den analytischen Daten der beigegebenen Tabelle (cf. Tab. II p. 705) geht ohne weiteres hervor, was auch schon der bloße Augenschein, die ganze Entwicklung der Kulturen wahrscheinlich machte, daß nämlich in diesen CaCO_3 -Kulturen eine Verarbeitung des elementaren N der Luft erfolgt war, wenn auch nur eine wenig bedeutende in Anbetracht der verwandten Kulturflüssigkeitsmengen (200 ccm) und gegenüber früheren und späteren Versuchen mit den praktisch wichtigen sogenannten Azotobakterorganismen in entsprechenden Nährlösungen.

Die Entwicklung der Organismen ist auch im Vergleich zu Azotobakter unter den bisherigen Bedingungen eine äußerst langsame. Eine relativ schnellere Entwicklung von Cyanophyceen, besonders auch von *Nostoc*, konnte übrigens in sehr kalkreichen und bodenreichen, zur Kultivierung von Azotobakter besonders geeigneten Zucker-Salzlösungen beobachtet werden; recht gut, fast zu üppiger Entwicklung kam auch *Nostoc* neben Azotobakter in gewissen N-freien, zuckerhaltigen bzw. Pektinstoff-haltigen Nährsubstraten.

Mit den analytischen Daten der Tabelle II ist allerdings noch keineswegs bewiesen, daß Cyanophyceen, besonders *Nostococcaceen*, tatsächlich im stande sind, den elementaren N der Luft zu verarbeiten, und so in gewissem Grade dazu beizutragen, den Boden an Gesamt-N anzureichern.

Vor allem war die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß als die eigentlichen N-Fixierer die in den Kulturen vorhandenen *Streptothrix*-artigen Pilze in Betracht kommen, welche übrigens etwas an die bekannte *St. odorifera* erinnern, jenen Pilz, welcher den auffallenden Geruch

Tabelle II.
Stickstoffbilanz bei Algenkulturen (Rohkulturen von Nostoc)

| Art der Kultur (Impfung?) und Entwicklung derselben | Zur Bestimmung des N vor- gelegte ccm (20) H ₂ SO ₄ 2 ccm Ba(OH) ₂ | Zurücktitriert: Zahl der Ba(OH) ₂ =ccm für die ge- samte Kulturflüssigkeit | Verbrauch an Ba(OH) ₂ für das gesamte Kulturmaterial | N-Gehalt der einzelnen Kulturen nach Ablauf des Versuches | Zunahme an Gesamt-N pro Kultur (200 ccm) | Bemerkungen |
|--|---|---|--|---|--|--|
| | ccm | ccm | ccm | in g | in g | |
| 0 Ungeimpft | 93,3 | 93,05 | — | | | Kulturflüssigkeiten waren steril geblieben |
| Mittel | | 92,95 | — | 7 | — | |
| ++ Bracherde I A (Caron) Mittel | 93,3 | 91,8 | 1,5 | 0,0007 | | In der Algenvegetation eine größere Nostoc- form bei weitem vorwiegend |
| Mittel | | 92,0 | 1,3 | 0,0032 | + 0,0025 | |
| ++ Bracherde I B (Caron) Mittel | 93,3 | 91,8 | 1,5 | 0,0035 | + 0,0028 | Vorwiegend größere Nostocform |
| +++ Bracherde II A (andere Fruchtfolge) Mittel | 93,3 | 91,7 | 1,6 | 0,0038 | + 0,0031 | Vorwiegend größere Nostocform |
| Mittel | | 91,6 | 1,7 | | | |
| +++ Bracherde II B (andere Fruchtfolge) Mittel | 93,3 | 91,7 | 1,6 | 0,0037 | + 0,0030 | Vorwiegend größere Nostocform |
| Mittel | | 91,7 | 1,6 | | | |

Zeichen - Erklärung:

- 0: Keine Entwicklung von Organismen; steril gebliebene Kulturflüssigkeit.
- +: Mäßige, ziemliche kümmerliche Entwicklung.
- ++: Gute, reichliche Entwicklung der Organismen.
- +++ : Sehr gute, üppige Entwicklung.

des frischgepflügten Ackers hervorrufft; und es konnte also unter den gegebenen Bedingungen eine nennenswerte Entwicklung von Cyanophyceen, besonders von Nostoc, eventuell erst möglich bzw. erst eingetreten sein bei gleichzeitiger bzw. vorangegangener Pilzentwicklung.

Man suchte deshalb Nostoc sowie den Pilz zunächst in Reinkultur zu gewinnen, um alsdann weitere ergänzende N-Bestimmungen vorzunehmen. Ebenso wenig aber wie die kleinere Nostocform konnte bisher auch die größere Form vollständig pilzfrei in Kultur erhalten werden; die weiteren Versuche konnten also noch nicht mit einer absoluten, sondern nur mit einer partiellen Reinkultur von Nostoc (größere Form), sowie mit einer Reinkultur des begleitenden Pilzes an gestellt werden. Die kleinere Nostocform entwickelt sich auf festen und in flüssigen, sogenannten N-freien Nährsubstraten, wenigstens nach den bisherigen Versuchen, nur recht kümmerlich und wurde zunächst keiner weiteren Untersuchung unterzogen. Die größere Nostocform entwickelt sich gut in sogenannter N-freier Nährlösung (L. II b) mit K₂HPO₄ und CaCO₃, auffallend besser in Nährlösung III mit K₃PO₄ und CaCO₃, sehr kümmerlich in Lösung I mit KH₂PO₄ und CaCO₃. Während nun in den K₃PO₄- und K₂PO₄-Kulturen nur eine sehr schwache Vegetation des begleitenden Pilzes zu beobachten war, so

Tabelle III.
 Stickstoffbilanz bei Algenkulturen (partielle Reinkulturen).

| Art der Kultur: (Impfung?) und Entwicklung | Zur Bestimmung des N vorgelegte ccm H ₂ SO ₄ (20) = ccm Ba(OH) ₂ | | Zurücktitriert: Zahl der Ba(OH) ₂ = ccm für die gesamte Kulturflüssigkeit | Verbraucht an Ba(OH) ₂ für die gesamte Kulturmenge | N-Gehalt der einzelnen Kulturen nach Ablauf des Versuches | Zunahme an Gesamt-N pro Kultur | Bemerkungen | |
|--|---|-------|--|--|---|-----------------------------------|---|--|
| | ccm | ccm | ccm | in g | in g | | | |
| 1. Ugeimpft | KH ₂ PO ₄ | 93,3 | — | — | — | — | L I, II, III ohne Zucker mit CaCO ₃ (200 ccm + 1,0 g CaCO ₃) Kulturflüssigkeiten waren sämtlich steril geblieben | |
| | 0 Mittel | 92,9 | 92,9 | 0,4 | 0,0009 | — | | |
| | K ₂ HPO ₄ | 93,3 | 93,05 | — | — | — | | |
| 0 Mittel | 92,95 | 93,0 | 0,3 | 0,0007 | — | — | | |
| K ₃ PO ₄ | 93,3 | 92,95 | — | — | — | — | | |
| 0 Mittel | 92,95 | 92,95 | 0,5 | 0,0008 | — | — | | |
| 2. Bodenschimmel (ohne Algen) | K ₁ H ₂ PO ₄ | 93,3 | 92,9 | — | — | — | | L I, II, III + Zucker (200 ccm + 0,2 g Dextrose chem. rein + 1,0 g CaCO ₃) Auch in anderweitigen Kulturversuchen mit Bodenschimmel- pilzen wurden nur nega- tive Resultate (bezüglich der N-Bindung) erzielt (und zwar gleichfalls auf Reinkulturen von Pilzen). |
| | + Mittel | 92,8 | 92,85 | 0,45 | 0,0010 | (0,0001?) | | |
| | K ₂ HPO ₄ | 93,3 | 92,7 | — | — | — | | |
| + Mittel | 92,7 | 92,7 | 0,6 | 0,0014 | (0,0007?) | — | | |
| K ₃ PO ₄ | 93,3 | 92,8 | — | — | — | — | | |
| + Mittel | 92,8 | 92,8 | 0,5 | 0,0012 | (0,0004?) | — | | |
| 3. Algen (Nostoc) mit Spuren Bodenschimmel | KH ₂ PO ₄ | 93,3 | 92,8 | — | — | — | L I, II, III ohne Zucker(200 ccm + 1,0 Proz. CaCO ₃) mit CaCO ₃ Etwas reichlichere Mengen von Pilzfäden zu beobachten Sehr wenig Pilzfäden sowohl äußerlich beim blo- ßen Augenschein als mikro- skopisch zu beobachten Sehr wenig Pilzfäden auffallend üppige Ent- wicklung von Nostoc | |
| | + Mittel | 92,8 | 92,8 | 0,5 | 0,0012 | { 0,0003? } { (0,0002 cf. 2) } | | |
| | K ₂ HPO ₄ | 93,3 | 91,4 | — | — | — | | |
| | ++ Mittel | 91,5 | 91,45 | 1,85 | 0,0043 | + 0,0036 (0,0029 cf. 2) | | |
| K ₃ PO ₄ | 93,3 | 90,8 | — | — | — | | | |
| +++ Mittel | 90,6 | 90,7 | 2,6 | 0,0060 | + 0,0052 (0,0048 cf. 2) | | | |

Zeichen - Erklärung:

- 0: Keine Organismenentwicklung, steril gebliebene Kulturflüssigkeit.
 +: Sehr mäßige kümmerliche Entwicklung.
 ++: Gute, reichliche Entwicklung.
 +++: Sehr gute, üppige Entwicklung der Organismen.

konnte man in den K₁H₂PO₄-Kulturen den Pilz sich entschieden etwas besser entwickeln sehen.

Als Reinkultur kam der Pilz in den Kohlenhydrat-freien und N-freien Nährlösungen (L. I, L. II, L. III) überhaupt nicht zu einer deutlich sichtbaren Entwicklung; es wurden deshalb auch gar keine N-Bestimmungen erst vorgenommen und der Pilz in dieselben Nährlösungen mit

geringen Mengen Zucker (200 ccm, 0,2 g Dextrose) eingimpft. Diese Kulturen zeigten zwar eine leidlich gute Pilzentwicklung, aber wie die analytischen Daten (s. Tabelle III) beweisen, kann von einer Verarbeitung des elementaren N der Luft durch ihn selbst unter den modifizierten, für den Pilz günstigeren Bedingungen (Vorhandensein von Kohlenhydratnahrung) nicht die Rede sein. Der erhöhte N-Gehalt ist wahrscheinlich (abgesehen von den Fehlergrenzen bei den N-Bestimmungen) lediglich auf die geringen im Zucker immer noch vorhandenen und mitbestimmten N-Mengen zurückzuführen. Leider ist es verabsäumt worden, die entsprechenden zuckerhaltigen, ungeimpften, sterilen Nährlösungen auf ihren N-Gehalt hin zu untersuchen. Das Endergebnis der gesamten weiteren N-Bestimmungen wird indessen dadurch gar nicht beeinflusst. Wie aus den analytischen Daten der beigegebenen Tabelle (cf. Tabelle III), in Ergänzung derjenigen von Tabelle II, ohne weiteres hervorgeht, konnte unter den innegehaltenen Kulturbedingungen eine deutliche, immerhin nennenswerte Verarbeitung des elementaren N der Luft festgestellt werden und es kann weiterhin gar keinem Zweifel unterliegen, daß in dem vorliegenden Falle einzig und allein blaugrüne Algen (*Nostoc*) als die spezifischen N-sammelnden Organismen zu betrachten sind. Dabei mag nicht unerwähnt bleiben, daß sich der besseren augenscheinlichen Entwicklung der K_2PO_4 -Kulturen auch eine etwas höhere N-Zunahme gegenüber den Kulturen mit K_2HPO_4 feststellen ließ.

Durch geeignete sogenannte Passagekulturen wird man nach der Ansicht des Verf. im Laufe der Zeit zweifellos auch die N-sammelnde Fähigkeit blaugrüner Algen immerhin etwas steigern können, wenn man auch sicherlich niemals in Kulturen ähnliche hohe N-Zunahmen wie bei den zur Zeit praktisch wohl wichtigsten sogenannten Azotobakterorganismen wird erzielen können.

Zum Vergleiche der N-Gewinne bei *Nostoc*-Kulturen mit denjenigen bei Azotobakterkulturen mögen noch einige tabellarisch geordnete Zahlen (cf. Tabelle IV) angeführt werden. Nach dieser Tabelle (IV, a) sind die zuerst von Krüger und Schneidewind gefundenen N-Gewinne bei Azotobakterreinkulturen unter den gerade obwaltenden Bedingungen keineswegs auffallend hohe; immerhin lassen diese ersten Zahlen eine nennenswerte Verarbeitung von elementarem N durch Azotobakter außer allem Zweifel als sicher erkennen.

Größere N-Gewinne bei Azotobakterreinkulturen konnten weiterhin unter etwas modifizierten Bedingungen u. a. besonders von Gerlach und Vogel erzielt werden; auch Verf. erhielt mit Reinkulturen von Azotobakter (u. a. besonders bei Zusatz von Kalk, Gips, überhaupt von erdigen Bestandteilen zu den spezifischen Nährlösungen) in ähnlicher Weise wie Gerlach und Vogel nicht unbedeutend größere N-Zunahmen.

Besonders große N-Gewinne erhielt jedoch Verf. bei späteren Versuchen mit Azotobakter als sogenannte Rohkulturen unter Verwendung von größeren Mengen Impferde und vor allem unter Verwendung von geeigneten Phosphorsäureverbindungen und reichlichen Kalkmengen. Neben einer guten Entwicklung von Bakterien, Pilzen, grünen und blaugrünen Algen (letztere auch schon nach relativ kurzer Kulturzeit) konnte vor allem meist schon nach einigen wenigen Tagen eine äußerst üppige Entwicklung von Azotobakter in Gestalt einer stark schleimigen, oftmals mehrere

Millimeter dicken, bald mehr braun, bald mehr schwarz oder schwarzbraun sich verfärbenden Kahmhaut beobachtet werden.

Tabelle IV.
Stickstoffbilanz bei Azotobakterkulturen.
a) Einige Zahlen nach Krüger und Schneidewind.

| Versuch | Menge der sogen. N-freien Nährflüssigkeit | Stickstoffgehalt der Kulturen nach Ablauf des Versuches | | | Bemerkungen N-Bestimmungen in Reinkulturen |
|---------|---|---|----------------------------|---|--|
| | | Ungeimpfte sterile Kulturflüssigkeit | Geimpfte Kulturflüssigkeit | Zunahme an Gesamt-N gegenüber ungeimpft | |
| | | g | g | g | |
| No. I | 100 ccm | 0,0003 | 0,0049 | 0,0046 | Zucker-Salzlösung mit 1 Proz. Dextrose. Herkunft der Impferde bezw. der Azotobakterorganismen: Landw. Versuchsfeld Halle a. S. (Kühn). |
| No. II | 200 „ | 0,0006 | 0,0074 | 0,0068 | |
| No. III | 300 „ | 0,0009 | 0,0094 | 0,0085 | |

b) Einige Zahlen nach Versuchen von B. Heinze.
(Azotobakterrohkulturen mit Impferde.)

| Versuch | Stickstoffgehalt der Kulturen — 100 ccm | | Zunahme an Gesamt-N der einzelnen Kulturen | Berechneter N-Gehalt | | | Bemerkungen: Flüssige ca. 10-proz. Bodenkulturen mit verschieden hohem CaCO ₃ -Gehalte und wiederholter C-Gabe |
|---------|---|---|--|--|-----------------------|-----------|--|
| | am Anfang des Versuches | nach Ablauf des Versuches Endbestimmung | | Anfangs-N-Gehalt = 100 gesetzt; N-Gehalt alsdann | | | |
| | | | | Anfangs-N-Gehalt | am Ende des Versuches | Differenz | |
| | mg | mg | mg | mg | mg | mg | |
| No. I | 14,0 | 50,9 | + 36,9 | 100 | 364 | 264 | Schon nach einigen Tagen immer Auftreten einer äußerst üppigen Azotobaktervegetation, später auch reichliche Algenvegetationen (vorwiegend Nostoc). Impferde: Bracherde (Lauchstädt). Kulturen mit sehr reichlichen, verschieden großen CaCO ₃ -Mengen. |
| No. II | 14,0 | 57,7 | + 43,7 | 100 | 412 | 312 | |
| No. III | 14,0 | 63,6 | + 49,6 | 100 | 454 | 354 | |
| No. IV | 14,0 | 64,8 | + 50,8 | 100 | 463 | 363 | |

Während nun Verf. früher in solchen Kulturen (wie z. B. bei einem Anfangs-N-Gehalte von ca. 30 mg pro Kultur und einem N-Gehalte von ca. 45 mg nach Ablauf der Versuche) im allgemeinen immer einen N-Gewinn von 50 Proz. N in Form von Organismeneiweiß beobachtete, lehrt ein Blick auf die beigegebene Tabelle (IV, b), wie sich bei anderer Versuchsanordnung unter nur wenig modifizierten Bedingungen ein weit höherer N-Gewinn (von ca. 300 Proz. und mehr) erzielen läßt, freilich unter künstlichen Bedingungen bei Versuchen im kleinen Maßstabe — und damit unter wenig natürlichen Verhältnissen. Die entsprechenden (den natürlichen Verhältnissen einigermaßen angepaßten) festen — mit Nährsalzlösungen durchtränkten — Bodenkulturen sind noch nicht abgeschlossen. —

Weit ausgedehnteren Untersuchungen als bisher muß es alsdann vorbehalten bleiben, die gegenseitige Beeinflussung von Azotobakter-

organismen (— die als mehr oder weniger farblose sog. Parallelformen zu gewissen Cyanophyceen anzusprechen sind — s. oben) und blaugrünen bzw. grünen Algen festzustellen. Bei den verschiedenartigsten Bodenkulturen konnte Verf., wie schon erwähnt, sehr häufig das gemeinschaftliche reichliche Vorkommen von Azotobakter und grünen Algen (hauptsächlich Chlorella-Arten) wie auch von Azotobakter und blaugrünen Algen (hauptsächlich Nostoc-Arten und Oscillarien) beobachten. Auch H. Fischer erwähnt bereits das häufigere Vorkommen von Azotobakter und Oscillarien auf dem gleichen Substrate. Unter geeigneten Bedingungen bilden übrigens nach speziellen Untersuchungen des Verf. Azotobakter, wie auch blaugrüne und grüne Algen reichlich Glykogen. Auf alle Fälle unterliegt es nach mannigfachen Untersuchungen und Beobachtungen gar keinem Zweifel mehr, daß gerade die von Algen der verschiedensten Art besiedelten und vom Lichte getroffenen Bodenschichten in den weitaus meisten Fällen der Sitz der intensivsten N-Fixierung sind. An dieser, — nach den gerade obwaltenden bodenklimatischen Verhältnissen —, mehr oder minder starken Anreicherung des Bodens an Gesamtstickstoff sind nun zweifellos direkt auch gewisse, wenn nicht viele, blaugrüne Algen beteiligt, nach den bisherigen analytischen Daten von Nostoc allerdings nur in untergeordneter Weise und in weitaus geringerem Maße, als Azotobakter.

Indirekt spielen aber auch die mannigfachsten grünen Algen eine große Rolle: und zwar besonders als Lieferanten der Kohlenstoffnahrung für N-sammelnde Organismen; jedenfalls ist in dieser Hinsicht auch weiterhin die von Reinke mitgeteilte Beobachtung Keutners von großem Interesse, daß auf üppig entwickelten Wasseralggen, wie *Laminaria flexicaulis*, *Fucus serratus*, *Hydroclathrum sanguineum* u. a. Azotobakter in solchen Mengen vorkommt, daß man ihn bequem direkt mikroskopisch in dem abgekratzten Schleime nachweisen kann.

Und so wird man beim gegenwärtigen Stande der mikrobiologischen Bodenkunde — nach all den mannigfachen bisherigen Untersuchungen und Beobachtungen und abgesehen von einer nach unseren vorläufigen Kenntnissen noch unbedeutenden Verarbeitung des elementaren N durch gewisse blaugrüne Algen, — im allgemeinen die große Bedeutung der Algen für die Stickstoffbindung im Boden hauptsächlich darin zu suchen haben, daß sie N-sammelnde Organismen, vor allem Azotobakter in reichlichem Maße mit wertvollen, besonders geeigneten Kohlenstoffverbindungen (wie Mannit, Glykogen), event. auch mit Pentosanen¹⁾, Pentosen (Pektinstoffen?) versorgen, und man braucht schließlich nicht mehr, wie früher Gautier und Drouin es wollten, anzunehmen, daß die Algen, besonders die Chlorophyceen nur dadurch für die Stickstoffanreicherung des Bodens wichtig sind, daß sie Ammoniak speichern und so verhindern, daß Stickstoff in Form von Ammoniak durch Entweichen in die Luft in immerhin nennenswerten Mengen verloren geht. (Vergl. auch A. Kochs Mitteilungen in Lafars technischer Mykologie. 1904.)

1) Anmerkung: Pentosebildende Stoffe (Pentosane) sind bekanntlich verschiedentlich nachgewiesen worden, u. a. im Holz, Heu, Stroh, in Rübenschnitzeln, Kleien, Biertrebern, in Jute, in humushaltigem Erdboden etc.; sie geben beim Kochen mit Salzsäure, auch bei längerer Einwirkung von organischen Säuren zuckerähnliche Stoffe,

Pentosen, welche durch Hefen nicht direkt vergoren werden können, wohl aber durch mancherlei andere Mikroorganismen. Ebenso wie Pektinstoffe können übrigens nach neueren Beobachtungen d. Verf. auch Pentosane den Azotobakterorganismen als C-Quelle dienen. (Vergl. hierzu E. Schmidt, Pharm. Chemie. 1898.)

Literaturangaben.

- Annasagora d'Ercole, La calciocianamide ed il suo migliore impiego in agricoltura (zusammengestellte Versuchsergebnisse nach Topf- und Feldversuchen von Gerlach, Wagner, Mayer, Otto, Boschi, Nicola, Vivenza, Vicenti u. A.) (Brochure der Società italiana per la fabbricazione di prodotti azotati.)
- Bennecke u. Keutner, Ueber stickstoffbindende Bakterien aus der Ostsee. (Ber. d. deutschen botan. Gesellschaft. Bd. XXI. 1903. H. 6.)
- Behrens, J., Die Arbeit der Bakterien im Boden und im Dünger. (Arbeiten d. deutschen Landwirtschaftsgesellschaft: Neuere Fortschritte in Wirtschaftsbetrieb u. Bodenkultur. 1901. H. 64. p. 108 ff.)
- Beijerinck, W., Ueber oligonitrophile Mikroben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VII. 1901. p. 561 ff.)
- Bouilhac, R., Sur la fixation de l'azote atmosphérique par l'association des algues et les bactéries. (Comptes rendus de l'Académie des sciences Paris. T. CXXIII. p. 818. Kochs Jahresb. 1897. Bd. VII. p. 207.)
- , Sur la culture du Nostoc punctiforme en présence du glucose. (Comptes rendus de l'Acad. T. CXXV. p. 880. K. J. 1897. Bd. VIII. p. 212.)
- , Sur la végétation du Nostoc punctiforme en présence de différents hydrates de carbone. (Compt. rend. de l'Acad. T. CXXXIII. p. 55. K. J. 1901. Bd. XII. p. 101.)
- Bouilhac et Giustiniani, Sur les cultures des diverses plantes supérieures en présence d'un mélange d'algues et de bactéries. (Comptes rendus de l'Acad. des sciences. T. CXXXVIII. p. 293.)
- Dehéraïn et Demoussy, Sur la culture des lupins blancs. (Comptes rendus de l'acad. des sciences. Paris. T. CXXX. 1900. p. 20.) — Sur la culture des lupins bleus. (ibidem p. 465.)
- Fischer, A., Vorlesungen über Bakterien. Jena (G. Fischer) 1903.
- , H., Ueber Symbiose von Azotobakter mit Oscillarien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. p. 267.)
- Frank, Adolf, Die Nutzbarmachung des freien Stickstoffs der Luft für Landwirtschaft und Industrie. (Zeitschr. f. angewandte Chemie. Bd. XVI. 1903. p. 536 u. Chemikerzeitung. Bd. XXVII. p. 542.)
- Frank, A. B., Untersuchungen über die Ernährung der Pflanze mit Stickstoff und über den Kreislauf desselben in der Landwirtschaft. (Landwirtschaftl. Jahrb. 1888. Bd. XVII. p. 421.)
- Frank, A. B., Ueber den experimentellen Nachweis der Assimilation freien Stickstoffes durch erdbewohnende Algen. (Berichte d. deutschen botan. Gesellschaft. 1889. p. 34.)
- Gerlach u. Vogel, Stickstoffsammelnde Bakterien u. weitere Versuche mit N-sammelnden Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 669. Bd. IX. p. 817 u. Bd. X. 1903. p. 636.)
- Gautier u. Drouin, Comptes rendus de l'acad. des sciences. Bd. CVI. 1888. p. 1174 u. 1233 u. spätere Mitteilungen.
- Graebner, Siehe A. Koch: Die Bindung von freiem Stickstoff durch frei lebende niedere Organismen. (Lafars techn. Mykologie. 1904. 2. Lief. p. 7.)
- Hansen, E. Chr., siehe F. Lafars techn. Mykologie; Jörgensen, Die Mikroorganismen in der Gärungsindustrie; A. Fischer, Vorlesungen über Bakterien. Jena 1903.
- Heinze, B., Ueber die Bildung und Wiederverarbeitung von Glykogen durch niedere pflanzliche Organismen. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XII. 1904. Abt. II.)
- , Einige Berichtigungen u. weitere Mitteilungen zu der Abhandlung: „Ueber die Bildung u. Wiederverarbeitung von Glykogen durch niedere pflanzliche Organismen.“ (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905.)
- Hellriegel u. Wilfarth, Untersuchungen über die Stickstoffernährung der Gramineen u. Leguminosen. 1888. Beilageheft 7 d. Zeitschr. d. Vereins f. d. Rübenzuckerindustrie d. D. R.
- Jörgensen, A., Die Mikroorganismen in der Gärungsindustrie. Jena 1898.
- Keutner, Ueber das Vorkommen N-bindender Bakterien im Meere. (Wissenschaftl. Meeresuntersuchungen. Neue Folge. Bd. VIII. 1904.)
- Koch, Robert, siehe Fischer, Vorles. über Bakterien, Lafars techn. Mykologie etc.
- Kossowitsch, Untersuchungen über die Frage, ob die Algen freien Stickstoff fixieren. (Botan. Zeitg. 1904. p. 97 ff.)

- Krüger u. Schneidewind, Sind niedere, chlorophyllgrüne Algen imstande, den freien Stickstoff zu assimilieren? (Landwirtsch. Jahrb. 1900. Bd. XXIX. H. 4/5.)
Lafar, F., Handbuch der technischen Mykologie. Jena (G. Fischer) 1904.
Leeuwenhoek, A., siehe Fischer, Vorlesungen über Bakterien. Lafar, Techn. Mykologie. Jörgensen, Mikroorg. in d. Gärungsindustrie. Lindner, Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben.
Liebig, J., cf. Behrens, Die Arbeit der Bakterien im Boden u. Dünger, s. oben.
Pasteur, L., siehe Fischer, Vorlesungen über Bakterien etc.
Reinke, siehe Lafars techn. Mykologie. A. Koch, N-Assimilation etc.
Richter, Zur Frage d. N-Ernährung der Kulturpflanzen. (Landw. Versuchsstationen. Bd. LI. 1898. p. 221.)
Schloesing u. Laurent, Sur la fixation de l'azote-gazeux par les legumineuses; Sur la fixation de l'azote libre par les plantes; Recherches sur la fixation de l'azote libre par les plantes. (Compt. rend. CXI. 1890. p. 750. ibidem CXIII. 1891. p. 776; Annales de l'Institut Pasteur. T. VI. 1892. p. 65 u. 824; Compt. rend. T. CXV. 1892. p. 659 u. 732.)
Trenb, siehe Lafars techn. Mykologie. 1904. 2. Lief. p. 7.
Winogradski, Sur l'assimilation de l'azote gazeux de l'atmosphère par les microbes. (Comptes rendus. Paris. T. CXVI. 1893. p. 1380; T. CXVIII. 1894. p. 353; Archives des sciences biologiques St. Petersbourg. T. III. 1895.)

Nachdruck verboten.

Die beweglichen und unbeweglichen aëroben Gärungs- erreger in der Milch.

Gruppe des *Bacillus coli* und des *Bacterium aërogenes*.

[Arbeit aus dem bakteriologischen Laboratorium der Versuchsstation für
Molkereiwesen zu Kiel.]

Von Dr. **Theo. Gruber**, Hamburg.

(Schluß.)

No. 476. Unbeweglicher Gärungserreger.

Fundort: Milch.

Gelatineplatten 5 Tage bei 16—20°: Coli-Typus der Oberflächenkolonien mit mikroskopischer radiärer Flammung. Keine Bewegung vorhanden.

Agarstrich 24 Stunden bei 34°: Keine Bewegung; im übrigen wie 485.

Kartoffelkultur innerhalb 24 Stunden bei 20°: Keine Bewegung. Nach 14 Tagen: Breite, erhabene, dicke, glänzende, schmutzigweiße, wässrig-breitige Belagstreifen; Ammoniakbildung vorhanden.

Bouillonkultur wie 464: Keine Bewegung.

Heuinfus wie 464: Keine Bewegung.

Nährboden I: Kein Indol.

Nährboden II: Nitritbildung.

Milchkultur 5 Tage bei 16—20°: Gärung nicht sichtbar; Geruch nicht gerade unangenehm. Geschmack: Ganz schwach jauchig. (Vielleicht eine von jenen Kulturen, die den erfrischenden tierischen Geruch der Milch verursachen.)

Gelatine-Schüttelkultur nach 4 Tagen bei 10—20°: Starke Gasbildung.

476 beansprucht auf 50 ccm Mannitlösung 2,4, auf 50 ccm Maltoselösung 1,5, auf 50 ccm Dextroselösung 1,5, auf 50 ccm Galaktoselösung 1,9, auf 50 ccm Traubenzuckerlösung 2,1, auf 50 ccm Raffinoselösung 1,4, auf 50 ccm Arabinose- und α -Methylglykosidlösung je einen und für Lävulose 3,0 ccm $\frac{n}{4}$ NaOH. Milchzucker erleidet keine

Zersetzung, vielmehr sind von den 0,9 ccm $\frac{n}{4}$ NaOH, die notwendig waren, um die nicht-geimpften 50 ccm Zuckerlösung zu neutralisieren, 0,6 ccm gesättigt gewesen.

No. 486. Unbeweglicher Gärungserreger.

Fundort: In Cocosmelasse.

Gelatineplatten 5 Tage bei 20°: Aërogenes-Typus. Keine Bewegung.

Agarstrich innerhalb 24 Stunden bei 34°: Keine Bewegung, sonst wie 485.
Nach 3 Wochen: Schwacher, aber deutlicher Stallgeruch.

Kartoffelkultur wie 464, innerhalb 24 Stunden bei 16–20°: Keine Bewegung.

Bouillon innerhalb 24 Stunden bei 34°: Keine Bewegung. Starke Trübung.

Heuinfus 48 Stunden bei 16–20°: Schlierenbildung, schwache Trübung. Keine Bewegung.

Nährboden I: Indolbildung nicht vorhanden.

Nährboden II: Nitritbildung.

Milchkultur 5 Tage bei 16–20°: Gärung nicht sichtbar, schleimig und fadenziehend. Geruch nicht gerade unangenehm, ganz schwach jauchiger Geschmack.

Gelatine-Schüttelkultur ist nach 3 Tagen bei 16–20° mit vielen Gasblasen durchsetzt.

Verhalten der Zuckerarten wie No. 20.

Für 50 ccm Mannit sind 2,1, für Maltose 1,6, für Dextrose 2,0, für Galaktose 1,7, für Milchzucker 1,8, für Traubenzucker 1,7, für Raffinose 1,7, für Arabinose 1,4, für α -Methylglykosid 1,0, für Xylose und Rohrzucker 2,2, für Lävulose 3,0 ccm $\frac{n}{4}$ NaOH notwendig.

No. 491. Unbeweglicher Gärungserreger.

Fundort: wie 493.

Gelatineplatten 48 Stunden bei 16–20°: Coli-Typus, sowohl makro- wie mikroskopisch. Keine Bewegung.

Agarstrich 15 Stunden bei 34°: Keine Bewegung. Nach 14 Tagen: Ammoniak- und Stallgeruch.

Kartoffelkultur 48 Stunden bei 16–20°: Keine Bewegung. Nach 14 Tagen: Stall-Geruch.

Bouillon innerhalb 24 Stunden bei 34°: Trübung. Keine Bewegung.

Heuinfus 48 Stunden bei 16–20°: Schwache Trübung. Schlierenbildung. Keine Bewegung.

Nährboden I: Starke Indolbildung.

Nährboden II: Nitritbildung.

Milchkultur 5 Tage bei 20–22°: Deutliche Gärung, Stallgeschmack.

Gelatine-Schüttelkultur: Nach einigen Tagen bei 16–20° ist die Gelatine reichlich mit Gasblasen durchsetzt.

Gärung in Mannitlösung wie 506, ebenso das Verhalten von Raffinose, Rohrzucker und α -Methylglykosid, letztere Lösung mit metallisch irisierender Haut.

Für Mannit sind 2,8, für Maltose 1,2, für Dextrose 2,9, für Galaktose 2,5, für Milchzucker 1,8, für Traubenzucker 2,5, für Arabinose 2,6, für Xylose 1,6 und für Lävulose 4,0 ccm $\frac{n}{4}$ NaOH notwendig.

No. 492. Unbeweglicher Gärungserreger.

Fundort: wie 493.

Gelatineplatten 48 Stunden bei 16–20°: Kolonien makro- und mikroskopisch coli-artig. In hängendem Tropfen: Keine Bewegung.

Agarstrich 24 Stunden bei 34°: Keine Bewegung, sonst wie 485; aber nach 3 Wochen: Schwacher, aber deutlicher Stallgeruch.

Kartoffelkultur innerhalb 24 Stunden bei 16–20°: Keine Bewegung, später wie 464.

Bouillon innerhalb 24 Stunden bei 34°: Starke Trübung. Keine Bewegung.

Heuinfus 48 Stunden bei 16–20°: Schwache Trübung, Schlierenbildung, keine Bewegung.

Nährboden I: Indolbildung.

Nährboden II: Nitritbildung.

Milchkultur gerade wie 491. Gärung, Stallgeschmack und prickelnd.

Gelatine-Schüttelkultur nach 3 Tagen bei 16–20° mit reichlicher Gasbildung.

Raffinose, Rohrzucker und α -Methylglykosid verhalten sich wie 506; ebenso die Hautbildung in Rohrzucker wie 506. Mannit vergärt unter Gasbildung, 2,5 ccm $\frac{n}{4}$ NaOH sind erforderlich zu 50 ccm dieser Lösung, 1,3 für Maltose, 2,8 für Dextrose, 2,6 für Galaktose, 1,4 für Milchzucker, 2,8 für Traubenzucker, 1,6 für Arabinose, 2,0 für Xylose und 4,0 für Lävulose; alle Lösungen sind getrübt.

No. 493. Unbeweglicher Gärungserreger.

Fundort: Quark.
Gelatineplatten 5 Tage bei 16—20°: Makro- wie mikroskopisch Coli-Typus.
Keine Bewegung.
Agarstrich 24 Stunden bei 34°: Keine Bewegung. Wachstum wie 485. Nach 14 Tagen bei Zimmertemperatur: Ammoniakalischer und Stallgeruch.
Kartoffelkultur wie 492; innerhalb 24 Stunden bei 20°: Keine Bewegung.
Bouillon innerhalb 24 Stunden bei 34°: Stark getrübt. Keine Bewegung.
Heuinfus 48 Stunden bei 16—20°: Schwache Trübung. Keine Bewegung.
Milchkultur 5 Tage bei 20°: Gärung nicht sichtbar. Kräftiger Stallgeruch und Stallgeschmack.
Gelatine-Schüttelkultur nach 3 Tagen bei 16—20° reichlich mit Gasblasen durchsetzt.
Raffinose, Rohrzucker und α -Methylglykosid wie 506; ebenso Gasbildung in Mannit wie 506. Für 50 ccm Mannit sind 2,9, für Maltose 2,2, für Dextrose 3,0, für Galaktose 3,1, für Milchzucker 2,1, für Traubenzucker 2,6, für Arabinose 2,0, für Xylose 3,4 und für Lävulose 4,5 ccm $\frac{n}{4}$ NaOH nötig. Alle Lösungen werden getrübt, diejenige von α -Methylglykosid besitzt eine metallisch irisierende Haut.

No. 503. Unbeweglicher Gärungserreger.

Fundort: Butter.
Gelatineplatten 48 Stunden bei 16—20°: Coli-Typus. Keine Bewegung.
Agarstrich innerhalb 24 Stunden bei 34°: Keine Bewegung, sonst wie 485.
Nach 3 Wochen: Schwacher Stallgeruch.
Kartoffelkultur innerhalb 24 Stunden bei 16—20°: Keine Bewegung. Nach 14 Tagen: Dicke, erhabene, bräunlichweiße, glänzende Impfstreifen, deutlicher Ammoniakgeruch.
Bouillon innerhalb 24 Stunden bei 34°: Stark getrübt. Keine Bewegung.
Heuinfus innerhalb 48 Stunden bei 16—20°: Schlierenbildung, schwach getrübt.
Keine Bewegung.
Nährboden I: Indolbildung.
Nährboden II: Nitritbildung.
Milchkultur 5 Tage bei 20°: Gärung nicht sichtbar. Kräftiger Stallgeruch und Stallgeschmack.
Gelatine-Schüttelkultur zeigt nach 3 Tagen bei 16—20° viele Gasblasen.
Raffinose, α -Methylglykosid, Rohrzuckerlösung wie 506, letztere mit dünner, metallisch irisierender Haut. 50 ccm Mannitlösung mit deutlich vorausgegangener Gasbildung beanspruchen 2,8 ccm $\frac{n}{4}$ NaOH, Maltose gebraucht 1,3, Dextrose 2,85, Galaktose 2,1, Milchzucker 2,1, Traubenzucker 2,9, Arabinose 2,0, Xylose 2,0 und Lävulose 4,5 ccm $\frac{n}{4}$ NaOH.

No. 504. Unbeweglicher Gärungserreger.

Fundort: wie 503 und 506.
Gelatineplatten 10 Tage bei 16—20°: Die Kolonien ähneln makro- und mikroskopisch denen von 130. Stallgeruch auch vorhanden. Einige Oberflächenkolonien sind metallisch irisierend. Keine Bewegung der Bakterien vorhanden.
Agarstrich 5 Tage bei 16—20°: Wachstum ähnlich wie 363. Unbeweglich. Nach 3 Wochen: Deutlicher Stallgeruch.
Kartoffelkultur 48 Stunden bei 16—20°: Gelblichweiße, breiige, glänzende Auflagerungen, die später eine braungelbe Farbe annehmen; nach 14 Tagen: Stallgeruch vorhanden. 48 Stunden alte Kulturen zeigen keine Bewegung.
Bouillon innerhalb 24 Stunden bei 34°: Starke Trübung und deutliche Gärung.
Keine Bewegung.
Heuinfus 48 Stunden bei 16—20°: Schwache Trübung. Keine Bewegung.
Nährboden I: Indolbildung.
Nährboden II: Nitritbildung.
Milchkultur 6 Tage bei 16—20°: Kein Stallgeruch. Geschmack säuerlich, unangenehm.
Raffinose, Rohrzucker, α -Methylglykosidlösung wie 506, Rohrzucker und Methylglykosidlösung besitzen eine dünne, metallisch irisierende Haut. Für 50 ccm Mannitlösung, die lebhaft Gas bildet, sind 3,0, für Maltose 2,6, für Dextrose 2,5, für Galaktose 3,0, für Milchzucker 2,2, für Traubenzucker 2,8, für Arabinose 1,5, für Xylose 2,2 und für Lävulose 4,0 ccm $\frac{n}{4}$ NaOH notwendig; alle Nährlösungen sind getrübt.

No. 506. Unbeweglicher Gärungserreger.

Fundort: Butter.

Gelatineplatten nach 48 Stunden bei 16–20° mit Coli-Typus. Keine Bewegung.

Agarstrich 24 Stunden bei 34°: Keine Bewegung, sonst wie 485.

Kartoffelkultur gerade wie 464. Nach 24 Stunden bei 16–20°: Unbeweglich.

Bouillon 24 Stunden bei 34°: Starke Trübung, keine Bewegung.

Heuinfus 48 Stunden bei 16–20°: Schwache Trübung, Schlierenbildung. Keine Bewegung.

Nährboden I: Indol.

Nährboden II: Nitrit.

Milchkultur gerade wie 493: Gärung nicht zu bemerken, ausgeprägter Stallgeruch und Geschmack.

Gelatine-Schüttelkultur innerhalb 4 Tagen bei 16–20° mit Gasblasen durchsetzt.

Raffinose, Rohrzucker, α -Methylglykosid erleiden keine Säuerung; bei allen diesen 3 Nährlösungen ist der ursprüngliche Säuregrad der ungeimpften sterilisierten 50 ccm schon durch Ammoniakbildung abgestumpft, ein Tropfen von $\frac{n}{4}$ NaOH genügt zur intensiven Rotfärbung; auf der Rohrzuckerlösung schwimmt nach 3 Tagen bei 34° eine metallisch irisierende dünne Haut; 50 ccm Mannitlösung, die unter lebhafter Gasbildung säuert, brauchen 2,8 ccm $\frac{n}{4}$ NaOH, für Maltose sind 1,2, für Dextrose 4,8, für Galaktose 2,2, für Milchzucker 2,0, für Traubenzucker 2,8, für Arabinose 2,0, für Xylose 2,2 und für Lävulose 4,0 ccm $\frac{n}{4}$ NaOH notwendig; alle Substrate sind getrübt.

Tabelle I.

| No. der Sammlung | Wachstum auf Gelatineplatten 16–20° C 1 | Beweglichkeit auf Gelatineplatten 16–20° C 2 | Beweglichkeit auf Agarstrich bei 34° 3 | Beweglichkeit in Kartoffelkulturen 16–20° 4 | Beweglichkeit in Heuinfus 16–20° 5 |
|------------------|--|---|---|--|---------------------------------------|
| 129 | Aërogenes-Typus | kaum beweglich | deutliche Bewegung | deutliche Bewegung | deutliche Bewegung |
| 465 | Coli-Typus | Bewegung fraglich | " " " | deutliche Bewegung | " " " |
| 478 | " " | " " " | keine Bewegung | einzelne Bakt. bewegl. | " " " |
| 479 | " " | deutliche Bewegung | " " " | deutliche Bewegung | Bewegung fraglich |
| 482 | " " | Bewegung vorhanden | Bewegung vorhanden | einzelne Bakt. bewegl. | deutliche Bewegung |
| 484 | " " | einzelne Bakterien | einzelne Bakterien | deutl. Beweg. bei 20° | " " " |
| | | sehr beweglich | sehr beweglich | deutliche Bewegung | sehr beweglich |
| 485 | " " | deutliche Bewegung | deutliche Bewegung | schwache Bewegung | deutl. Beweg. |
| 488 | " " | Bewegung fraglich | einzelne Bakt. bewegl. | keine Bewegung | " " bei 34° |
| 489 | " " | keine Bewegung | deutliche Bewegung | " " | " " bei 34° |
| 490 | " " | Bewegung fraglich | " " " | " " | keine Bewegung |
| 23 | Aërogenes-Typus | keine Bewegung | keine Bewegung | " " | " " |
| 23a | Coli-Typus | " " | " " | " " | " " |
| 20 | " " | " " | " " | " " | " " |
| 130 | " " | " " | " " | " " | " " |
| 165 | " " | " " | " " | " " | " " |
| 362 | " " | " " | " " | " " | " " |
| 363 | " " | " " | " " | " " | " " |
| 452 | " " | " " | " " | " " | " " |
| 453 | Aërogenes-Typus | " " | " " | " " | " " |
| 464 | Coli-Typus | " " | " " | " " | " " |
| 476 | " " | " " | " " | " " | " " |
| 486 | Aërogenes-Typus | " " | " " | " " | " " |
| 491 | Coli-Typus | " " | " " | " " | " " |
| 492 | " " | " " | " " | " " | " " |
| 493 | " " | " " | " " | " " | " " |
| 503 | " " | " " | " " | " " | " " |
| 504 | " " | " " | " " | " " | " " |
| 506 | " " | " " | " " | 16–20° | " " |

Wie schon zuvor erwähnt und durch die Tabelle I ersichtlich, ist durch exakte Untersuchung der Beweglichkeit der 28 Stämme eine Gruppierung in zwei Kategorien möglich, aber weitere Unterabteilungen durch kulturelle Eigenschaften waren damit nicht geschaffen. Ich versuchte nun, der Physiologie der einzelnen Stämme näher zu treten, und zwar speziell der Vergärungsfähigkeit gegenüber verschiedenen Zuckerarten und Süßstoffen.

Flügge schreibt über *Bacterium coli*, daß Rohrzucker, Milch und Traubenzucker vergoren werden, Segin fügt noch Arabinose und Xylose hinzu, während weitere Resultate der physiologischen Tätigkeit der unbeweglichen Gärungserreger bezüglich der Zuckerarten mir in der Literatur nicht bekannt sind. Zur Untersuchung über diese Eigenschaften der 28 Gasbildner hatte ich von den Zuckerarten Milchzucker, Rohrzucker, Raffinose, Maltose, Dextrose, gebräuchlichen Traubenzucker, Galaktose, Lävulose, Xylose und Arabinose, ferner einen sechswertigen Alkohol-Mannit und α -Methylglykosid zur Verfügung. Die eigentlichen Nährstoffe fanden die Bakterien in dem als Nährmedium angewandten Hefewasser, das ein Auszug stärke- und zuckerfreier Preßhefe im Verhältnis 1 : 8 mit möglichst neutraler Reaktion darstellte, zu diesem neutralen Hefewasser wurde die betreffende Zuckerart hinzugefügt und als völlig klares Filtrat 10 Minuten bei 115° in Mengen von 50 ccm sterilisiert, dann wurde der Alkalitäts- resp. Aciditätsgrad mit Phenolphthalein genau festgestellt und später bei der Titration der Zuckerart in

| Beweglichkeit in gewöhnl. Bouillon 34° 6 | Indolbildung 8 Tage bei 34° 7 | Nitritbildung 8 Tage bei 34° 8 | Anordnung und Zahl der Cilien 9 | Milchkultur 6 Tage bei 20—21° 10 |
|---|--|------------------------------------|------------------------------------|---|
| schwache Bewegung einzelne Bakt. bewegl. | schwache Indolbild. deutl. Indolbildung | deutl. Nitritbildung " " | 1—2 monopol. Cilien " " " | schwacher Stallgeruch jauchig jauchig, salzig, stallartig |
| " " " keine Bewegung deutliche Bewegung sehr beweglich | schwache Indolbild. kein Indol " " | " " " " starke Nitritbildung | " " " " " " | " " stinkiger Geruch " eigentümlicher Geruch |
| deutliche Bewegung einzelne Bakt. bewegl. | " " deutl. Indolbildung | deutl. Nitritbildung " " | " " " " | Stallgeruch u. -geschmack eigentümlicher Geruch |
| deutliche Bewegung keine Bewegung | " " schw. Indolbildung | " " " " | 1 " monopol. Geißel — | ganz schwach jauchig fadenziehend, alkoholisch scharf nach Trimethylamin deutlicher Stallgeruch schwacher Stallgeruch |
| " " | " " deutl. Indolbildung | " " " " | — | " " |
| " " | " " | " " | — | " " |
| " " | " " | " " | — | faulig, salzig " |
| " " | " " | " " | — | jauchig, salzig |
| " " | " " | " " | — | kräftig, jauchig |
| " " | " " | " " | — | faulig, jauchig |
| " " | kein Indol | " " | — | schwach jauchig |
| " " | " " deutl. Indolbildung | " " | — | Stallgeruch " |
| " " | " " | " " | — | " " |
| " " | " " | " " | — | Stallgeruch u. -geschmack |
| " " | schwache Indolbild. deutl. Indolbildung | " " | — | säuerlich unangenehm Stallgeruch u. -geschmack |

Tabelle II.

| | Mannit 1 | Maltose 2 | Dextrose 3 | Galaktose 4 | Milch- zucker 5 | Trauben- zucker 6 | Raffinose 7 | Arabinose 8 | α -Methyl- glykosid 9 | Xylose 10 | Rohr- zucker 11 | Lävulose 12 | |
|--|-------------|--------------|---------------|----------------|-----------------------|-------------------------|----------------|----------------|------------------------------------|--------------|-----------------------|----------------|-----------|
| A. Bewegliche Gärungserreger. | | | | | | | | | | | | | |
| 485 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | I. Gruppe |
| 488 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | II. " |
| 489 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | III. " |
| 129 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | III. " |
| 465 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | " " |
| 490 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | " " |
| 478 | + | + | + | + | — | + | — | — | — | + | — | + | IV. " |
| 479 | + | + | + | + | — | + | — | — | — | + | — | + | " " |
| 482 | + | + | + | + | — | + | — | — | — | + | — | + | " " |
| 484 | + | + | + | + | — | + | — | — | — | + | — | + | " " |
| B. Unbewegliche Gärungserreger. | | | | | | | | | | | | | |
| 20 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | I. Gruppe |
| 23 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | " " |
| 23a | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | " " |
| 453 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | " " |
| 486 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | " " |
| 476 | + | + | + | + | — | + | + | + | + | + | + | + | II. " |
| 130 | + | + | + | + | + | + | + | + | — | + | + | + | III. " |
| 165 | + | + | + | + | + | + | — | + | — | + | — | + | IV. " |
| 362 | + | + | + | + | + | + | — | + | — | + | — | + | " " |
| 363 | + | + | + | + | + | + | — | + | — | + | — | + | " " |
| 452 | + | + | + | + | + | + | — | + | — | + | — | + | " " |
| 464 | + | + | + | + | + | + | — | + | — | + | — | + | " " |
| 491 | + | + | + | + | + | + | — | + | — | + | — | + | " " |
| 492 | + | + | + | + | + | + | — | + | — | + | — | + | " " |
| 493 | + | + | + | + | + | + | — | + | — | + | — | + | " " |
| 503 | + | + | + | + | + | + | — | + | — | + | — | + | " " |
| 504 | + | + | + | + | + | + | — | + | — | + | — | + | " " |
| 506 | + | + | + | + | + | + | — | + | — | + | — | + | " " |

Rechnung gezogen. Die geimpften Kölbchen wurden 3 Tage bei 34° bebrütet und titriert mit Phenolphthalein als Indikator.

Die Ergebnisse der Vergärbarkeit der 28 Gärungserreger sind in Tabelle II zusammengestellt, und zwar schon in Gruppen gemäß ihrer physiologischen Tätigkeit. Maltose, Dextrose, Galaktose, Traubenzucker, Xylose, Lävulose erleiden von allen Gruppen der Abteilung A und B eine Säuerung, Mannit wird auch von allen gesäuert, aber mit deutlicher starker Gasentwicklung, eine einheitliche Umsetzung von Arabinose findet nur bei den unbeweglichen Gasbildnern statt. Diejenigen Lösungen, die keiner Vergärung unterliegen, sind mehr oder minder alkalisch geworden bei den betreffenden Arten der zwei Kategorien.

Gruppe I A vergärt alle angewandten Nährsubstrate, und zwar Mannit und Rohrzucker mit deutlicher Gasentwicklung; sie entspricht der Gruppe I B.

Gruppe II A korrespondiert mit derjenigen von III B.

α -Methylphykosid erleidet keine Zersetzung, Mannitlösung eine solche unter Gasbildung, die anderen Substrate werden alle gesäuert.

Gruppe III A und Gruppe IV B verhalten sich gleich.

Raffinose, Rohrzucker, α -Methylglykosid bleiben unverändert, die

übrigen Lösungen werden vergoren und zwar α -Methylglykosid unter Gasbildung.

Gruppe IV A und II B sind Gruppen jede für sich.

Die Bakterien von IV A säuern Mannit unter Gasbildung, nicht zersetzt werden: Milchzucker, Raffinose, Arabinose, α -Methylglykosid und Rohrzucker.

II B ist ein Stamm, der nur den Milchzucker nicht zu zersetzen vermag.

Beim Abschlusse der vorausgegangenen Untersuchungen erhielt ich noch durch Vermittelung von Herrn Prof. Dr. Weigmann aus dem Tierseucheninstitut der Landwirtschaftskammer 5 virulente Stämme von Coli-Bakterien, welche die Kälberruhr veranlaßten.

Bezüglich ihrer Beweglichkeit sind alle, wie aus der beigefügten kurzen Beschreibung ersichtlich, mit einer deutlichen Bewegung im hängenden Tropfen versehen, und zwar sind die Cilien polar inseriert, nur bei 564 könnte man bei oberflächlicher Betrachtung annehmen, eine peritriche Begeißelung vor sich zu haben; doch diese Cilienbildung ist bei genauerem Studium nicht vorhanden (l. c. Beschreibung 564).

No. 562. Beweglicher Gärungserreger.

Fundort: Darm von Kälbern, Kälberruhr.

Gelatineplatten: Coli-Typus, weinblattartig, dünn, flach, bläulich schimmernd; mikroskopisch: ausgebuchtet, am Rande lockenkopffartig geflammt. 3 Tage bei 16–20°. Bewegung fraglich. Nach einigen Tagen ausgeprägter Stallgeruch.

Agarstrich: Nach 8 Stunden bei 34°: Deutliche Bewegung und alle Bakterien beweglich, 24 Stunden nach der Impfung keine Bewegung mehr. 12 Stunden bei 10 bis 16°: Deutliche Bewegung. Begeißelung: 1–2 Geißeln polar, manchmal seitlich inseriert, eine Geißel manchmal an der Mitte des Bakterienleibes eingehftet, ab und zu zwei Geißeln seitlich inseriert. Die polare Cilienbildung steht im Vordergrund. Wachstum bei 16–20° sehr gut, nach einigen Tagen deutlicher, widerwärtiger Stallgeruch.

Kartoffelkultur: Innerhalb 16 Stunden bei 34°: Gelblich glänzende Auflagerung, keine Bewegung. Nach 12 Tagen ist mehr oder minder starke bräunliche glänzende Färbung eingetreten, Streifen breiig.

Milchkultur innerhalb 24 Stunden bei 34°: Koagulation mit schwacher Gasbildung. Reaktion: sauer.

Nährboden I: Indolreaktion, mit Nitrit bedeutend intensiver.

Nährboden II: Nitritbildung.

No. 562 vergärt Mannit, Maltose, Dextrose, Galaktose, Milchzucker, Traubenzucker, Raffinose, Arabinose, Xylose, Rohrzucker und Lävulose, aber kein α -Methylglykosid, in letzterer Lösung ist No. 562 ein Alkalibildner.

No. 563.

Fundort: wie 562.

Gelatineplatten gerade wie 562.

Agarstrich gerade wie 562. Polare Cilien 1–3 vorhanden und vorherrschend, manchmal ist eine Geißel polar seitlich, manchmal zentral inseriert. Stallgeruch wie 562.

Kartoffelkultur wie 562.

Milchkultur bei 34°: Nach 5 Tagen tritt weiche Gerinnung ein, keine Gasbildung, saure Reaktion.

Nährboden I: gerade wie 562.

Nährboden II: Nitritbildung.

Vergärbarkeit der Zucker- und Süßstoffarten wie 562.

No. 564.

Fundort: wie 562.

Gelatineplatten wie 562.

Agarstrich wie 562. Deutliche Bewegung. Geißelbildung. Vorherrschend 3 polare, ab und zu polar seitlich inseriert. Bei Diplostäbchen besitzt das eine manchmal 3 polare Geißeln, das andere 2 polar seitliche, so daß man auf den ersten Blick annehmen könnte, es wäre peritriche Begeißelung vorhanden.

Kartoffelkultur wie 562.

Milchkultur wie 563.

Nährboden I: Indolreaktion.

Nährboden II: Nitritbildung.

No. 564 vergärt Mannit, Maltose, Dextrose, Milch- und Traubenzucker, Xylose und Lävulose, aber keine Raffinose, keinen Rohrzucker und kein α -Methylglykosid, in letzterer Lösung auch Alkalibildner.

No. 565.

Fundort: wie 562.

Gelatineplatten: Aërogener Typus: runde, gewölbte, wasserhelle, $\frac{1}{2}$, mm große Oberflächenkolonien, die mikroskopisch geschichtet erscheinen. Bakterien beweglich, aber nur einzelne. Später tritt eine Abflachung und Ausstülpung des Randes der Kolonien ein, so daß mehr der Coli-Typus gewahrt wird.

Agarstrich wie 562. Polare Cilien vorherrschend.

Kartoffelkultur wie 562.

Milchkultur nach 5 Tagen bei 34°: Aeußerlich unverändert. Reaktion sauer, beim Erwärmen gerinnend.

Nährboden I und II wie 562.

Bezüglich der Vergärungsfähigkeit cf. 562.

No. 566.

Fundort: wie 562.

Gelatineplatten wie 562.

Agarstrich wie 562. 1–2 polare Cilien vorherrschend, manchmal seitlich eingefügt.

Kartoffelkultur wie 562.

Milchkultur wie 565.

Nährboden I und II wie 562.

Betreffs der Vergärungsfähigkeiten verhält sich No. 566 gerade wie 562.

Tabelle III.

| | Wachstum auf Gelatineplatten 16–20° | Beweglichkeit auf Gelatineplatten 16–20° | Beweglichkeit auf Agarstrich 34° | Beweglichkeit in Kartoffelkultur 34° | Indolbildung 8 Tage bei 34° | Nitritbildung 8 Tage bei 34° | Milchkultur | Anordnung der Cilien |
|-----|-------------------------------------|--|----------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------|------------------------------|--------------------|----------------------|
| 362 | Coli-Typus | Bewegung fraglich | Deutliche Bewegung | Keine Bewegung | Vorhand. | Vorhand. | Gasbild. Koagulat. | 1–2 polar |
| 363 | " | " | " | " | " | " | Koagulat. | 1–3 " |
| 364 | " | " | " | " | " | " | " | 3 " |
| 365 | " | " | " | " | " | " | Saure Reaktion | polare |
| 366 | " | " | " | " | " | " | " | 1–2 polar |

Tabelle IV.

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | |
|-----|--------|---------|----------|-----------|-------------|---------------|-----------|-----------|-----------------------------------|--------|------------|----------|---|
| | Mannit | Maltose | Dextrose | Galaktose | Milchzucker | Traubenzucker | Raffinose | Arabinose | γ -Methylglykosid | Xylose | Rohrzucker | Lävulose | |
| 362 | + | + | + | + | + | + | + | + | | + | + | + | Gruppe II " } " } " } " } der Tab. IIA |
| 363 | + | + | + | + | + | + | + | + | | + | + | + | |
| 365 | + | + | + | + | + | + | + | + | | + | + | + | |
| 366 | + | + | + | + | + | + | + | + | | + | + | + | |
| 364 | + | + | + | + | + | + | – | + | Keine Säuerung, aber Alkalibildg. | + | – | + | |

In morphologischer Beziehung sind diese 5 Stämme (Tabelle III) den beweglichen Vertretern der Tabelle I völlig gleich, sie besitzen deutliche Bewegung auf Agarstrich bei 34°, die Bewegungsorgane sind mono-

polar angeordnet, und ihr Coli-Habitus auf Gelatineplatten ist völlig gewahrt. Nach physiologischer Seite hin betrachtet (Tabelle III und IV), bilden sie alle Indol und reduzieren die Nitrate. Gärungsphysiologisch reihen sich 362, 363, 365, 366 in die Gruppe II und 364 in die Gruppe III der Tabelle II A.

In kurzer Zusammenfassung vorliegender Untersuchungsergebnisse lassen sich folgende Hauptpunkte aufstellen:

1) Eine peritriche Anordnung ist bei sämtlichen beweglichen Gärungserregern nicht vorhanden, deshalb ist die Bezeichnung *Pseudomonas coli* völlig angebracht und die frühere Behauptung der diffusen Cilien in Frage zu stellen.

2) Kulturell, besonders das Wachstum auf Gelatineplatten kann für sich allein nicht diagnostisch zur Unterscheidung von *Pseudomonas coli* und *Bacterium aërogenes* angewandt werden.

3) Die Indolbildung muß also Charakteristikum für die beweglichen Gärungserreger fallen, da dieselbe auch den unbeweglichen zukommt.

4) Die Nitritbildung kommt sämtlichen Stämmen beider Gruppen zu.

5) Die gärungsphysiologischen Eigenschaften der beiden Arten von Gärungserregern lassen streng differenzierte Untergruppierungen der Stämme von *Pseudomonas coli* und von *Bacterium aërogenes* zu, zur Differentialdiagnose der beiden Arten voneinander ist die physiologische Eigenschaft nicht anwendbar, da die einzelnen Unterabteilungen der beiden Arten von Gärungserregern zum Teil miteinander korrespondieren.

6) Die Virulenz der Gasbildung und Koagulation in steriler Milch ist bald oder minder ausgeprägt.

7) Den charakteristischen Geruch, den sogenannten Stallgeruch, auf Agarplatten, Agarstrich oder in ausgegorener Milch erzeugen die einzelnen Stämme von *Pseudomonas coli* und *Bacterium aërogenes*.

Nachdruck verboten.

Weitere bakteriologische Untersuchungen mit der Stuttgarter Markt- und Handelsbutter.

[Aus der bakteriologischen Untersuchungsstation der Stadt Stuttgart.
Vorstand: Stadtarzt Dr. med. Gastpar.]

Von **Adolf Reitz**,

Assistent an der bakteriologischen Untersuchungsstation der Stadt Stuttgart.

Mit 1 Tafel und 15 Kurven.

Das Studium der Mikroflora in der Milch, dem Rahm, der Butter und dem Käse hat in den letzten Jahren zahlreiche Arbeiten gezeitigt, die zum Teil aus der Molkereipraxis stammten und als solche hauptsächlich für den Praktiker verwendbare Resultate lieferten, weiterhin solche Arbeiten, die rein wissenschaftliche, für die Praxis nicht verwendbare Ergebnisse zu Tage förderten.

Im Vordergrund des allgemeinen Interesses stand die Frage nach dem Vorkommen pathogener Bakterien in der Milch und deren Produkten, eine Frage, die namentlich durch den Aufschwung der Sammelmolkereien und der damit verbundenen größeren Infektionsgefahr eine

eingehende Beantwortung verdiente. Von den pathogenen Bakterien waren es hauptsächlich die Tuberkelbacillen, nach denen in der Milch und Butter gefahndet wurde und die in der Tat in zahlreichen Fällen unzweifelhaft nachgewiesen werden konnten¹⁾. Wie naturgemäß jedes Nahrungsmittel als Ueberträger von Infektionsstoffen dienen kann, so können auch in die Milch andere pathogene Bakterien gelangen: Scharlach, Typhus, Cholera, Diphtherie, Milzbrand, Rauschbrand, Pocken, Ruhr, Gelbsucht wurden in nicht wenigen Fällen auf den Genuß von infektiöser Milch zurückgeführt (cfr. Quellenverzeichnis).

Je mehr Zeit ein Nahrungsmittel zur Fertigstellung bei Temperaturen von 10—40° in Anspruch nimmt, je mehr Manipulationen die Herstellung des Nahrungsmittels erfordert, desto mehr ist im allgemeinen die Gefahr vorhanden, daß das Nahrungsmittel zum Nährmedium von Infektionsstoffen werden kann.

Kann der Konsument seine Nahrungsmittel, ohne denselben zu schaden, vor dem Genuß einer Erhitzung von 70—100° aussetzen, so bietet er sich dadurch eine gewisse Garantie, daß die Wirkungen der Infektionsstoffe ausgeschaltet sind. Ist die Erhitzung vor dem Genuß unmöglich, ohne daß das Nahrungsmittel eine Einbuße erleidet, so können nur die gewissenhaft ausgeführten Herstellungsmethoden Schutz vor Infektion gewähren.

Leider finden die eben erwähnten Tatsachen noch immer zu wenig Berücksichtigung in unserm Molkereiwesen, und bedauerlicherweise verschließt der Konsument sich und sein Portemonnaie noch immer so sehr den allgemeinen hygienischen Forderungen, daß er lieber Gefahr läuft, sich und seine Familie Krankheiten auszusetzen, als daß er seine Milch und seine Butter um einige Pfennige teurer bezahlt.

Die Herstellungsmethoden der Butter sind derart, daß sie in der vielfältigsten Weise infiziert werden kann, ohne daß dem Konsumenten eine Möglichkeit geboten ist, sich vor einer Infektion zu schützen, da die Butter meist roh genossen wird. Das beinahe überall eingeführte Zentrifugieren der Rohmilch reichert den Rahm mit Bakterien an: die wenig Bakterien enthaltende Magermilch gibt man den Schweinen, den Rahm, der Millionen von Bakterien enthält, ißt der Mensch, oder es wird der Rahm zu Butter verarbeitet, ohne daß der Versuch gemacht wird, die Bakterienzahl zu vermindern, was namentlich auch der Güte der Butter zu gute kommen würde. Daß durch die Behandlung der Gefäße und anderer Molkereiutensilien mit unreinem Wasser, das häufig mit der Butter selber in direkte Berührung kommt, Typhusbakterien und andere im Wasser enthaltene Krankheitskeime der Butter einverleibt werden können, liegt auf der Hand.

Im nachfolgenden sind die weiteren Untersuchungen zusammengestellt, die ich mit der Stuttgarter Markt- und Handelsbutter in bakteriologischer Beziehung vorgenommen habe.

Die Butter wurde betreffend pathogener Bakterien [exkl. Tuberkelbacillen²⁾] auf Typhus und Diphtheriebacillen untersucht. Besondere Nachweismethoden anderer pathogener Bakterien, soweit letztere nicht auf den gewöhnlichen Nährböden zum Wachstum gelangen, kamen nicht in Anwendung.

1) Cf. Arch. f. Hygiene. 1906. No. 57; Centralbl. f. Bakteriologie. II. 1906. No. 16.

2) Cfr. diesbez. Mitteilungen im Centralbl. f. Bakt. u. Arch. f. Hyg.

I. Untersuchungen auf Typhusbakterien.

Ueber das Verhalten der Typhusbakterien in Milch und deren Produkten finden sich Angaben bei Bassenge, der nachwies, daß die Typhuskeime durch Zentrifugieren der Milch größtenteils in den Rahm und dadurch in die Butter übergehen. Sie können sich längere Zeit in der Butter lebend erhalten, mindestens während der Zeit, in der die Butter als geschmacklich gut taxiert wird.

Bruck ahmte experimentell den Vorgang nach, wie die Butter mit Typhusbakterien infiziert werden kann. Durch Ausspülen der Rahmgefäße mit typhusbacillenhaltigem Wasser gelangten zahlreiche Typhuskeime in die Butter, die in derselben bis zum 27. Tage virulent waren.

Bolley und Field stellten durch Versuche fest, daß Typhuskeime mindestens 10 Tage in Butter ihre Virulenz erhalten können.

Fränkel und Kister beschrieben Untersuchungen über das Verhalten der Typhusbacillen in Buttermilch und gelangen zu dem Resultate, daß auch kleinere Mengen von Typhusbacillen in diesem sauren Nährmedium mindestens 48 Stunden lebensfähig sind.

Laser, Heim gelangten bei ihren Versuchen über die Lebensfähigkeit von Typhusbacillen in Butter zu verschiedenen Resultaten. Heim fand Typhusbacillen in der Milch noch am 35. Tage, in Butter noch nach 3 Wochen, nach Laser vermögen sich die Typhuskeime ca. 1 Woche in der Butter lebensfähig zu erhalten. (Die Differenz in den Resultaten ist wohl durch die Verschiedenheit der Versuchsbedingungen zu erklären.)

Hesse stellte darüber Versuche an, wie weit unsere Nahrungsmittel als Nährböden für die Mikroorganismen des Typhus abdominalis dienen können und kam zu dem Resultate, daß auf den meisten Nahrungsmitteln die Typhuskeime sich vermehren können.

Ueber einen Fall von einer 47 Personen umfassenden Typhusepidemie, veranlaßt durch Sammelmolkereien, berichtet Behla: Eine an Typhus erkrankte Magd hatte die Kühe gemolken, wodurch die Infektion zu stande gekommen war.

Schlegental stellt 27 größere und kleinere Epidemien, von denen eine 287 Erkrankte umfaßt, zusammen, die auf Molkereien zurückgeführt werden können.

Raßmund, Pfuhl, Ballard, Auerbach, Schmidt, Almquist, Swithinbank und Newmann beschreiben weitere Epidemien, verursacht durch Genuß infektiöser Milch.

Die Untersuchung der Stuttgarter Butter auf Typhusbacillen führte ich an 30 Butterproben folgendermaßen aus:

Zur Untersuchung gelangten 250 g Butter, die ich persönlich von den Verkaufsstellen bezog. Von der Butter wurde jedesmal der Säuregrad bestimmt. Die ganze Buttermenge schmolz ich in einer großen sterilisierten Porzellanschale auf dem Wasserbade so, daß die geschmolzene Butter eine Temperatur von 25—30° besaß. Von der geschmolzenen Butter wurden mit Drigalski-Spatel auf 6 Drigalski-Conradi-Nährbodenplatten Aufstriche angefertigt, ebenso erfolgte der Aufstrich auf 6 Platten Endoschen Nährbodens. Die Verdünnung wurde in einfacher Weise dadurch hergestellt, daß der Spatel, nachdem eine Platte bestrichen war, ohne Benetzung mit weiterem Material auf die andern Platten gebracht wurde.

Der Drigalski-Conradi-Nährboden wurde nach Angabe des Kaiserlichen Gesundheitsamtes folgendermaßen hergestellt:

I. Bereitung des Agars.

„3 Pfund fettfreies Pferdefleisch werden fein gehackt, mit 2 l Wasser übergossen und bis zum nächsten Tage stehen gelassen (im Eisschrank).

Das Fleischwasser wird sodann abgeseiht und nach Zusatz von

| | | |
|-----|--------------|--------------------|
| 1 | Proz. = 20,0 | Pepton sicc. Witte |
| 1 | „ = 20,0 | Nutrose |
| 0,5 | „ = 10,0 | Kochsalz |

1 Stunde lang gekocht.

Diese Brühe wird durch Leinwand filtriert und mit 3 Proz. = 60,0 g zerkleinertem Stangenagar während 3 Stunden im Dampftopf gekocht, darauf durch Leinwand im Dampftopf filtriert.

II. Milchzucker-Lackmuslösung.

300,0 ccm (15 Proz.) Lackmuslösung von Kahlbaum-Berlin werden 10 Minuten lang gekocht, darauf 30,0 g (1,5 Proz.) Milchzucker hinzugefügt und abermals 15 Minuten lang gekocht.

III. Mischung.

Die heiße Milchzucker-Lackmuslösung (II) wird zu der heißen Agarmasse (I) zugesetzt und die rot gewordene Mischung mit 10 Proz. Sodalösung bis zur schwach alkalischen Reaktion alkalisiert (Phenolphthaleinpapier).

Zu dem schwach alkalischen Nährboden werden 6,0 ccm einer sterilen warmen 10-proz. Sodalösung und 20,0 ccm einer frischen Lösung von 0,1 g Kristallviolett 0 chemisch rein — Höchst — in 100,0 Aq. dest. steril. hinzugefügt.“

Der Nährboden wurde in Mengen von etwa 200,0 ccm in sterilisierte Erlenmayer-Kölbchen abgefüllt.

Die Herstellung des Endo-Nährbodens erfolgte nach folgendem Rezept:

500 g zerkhacktes Rindfleisch wurden mit 1 l Wasser, 10,0 Pepton sicc. Witte und 30,0 Agar versetzt, gekocht, filtriert und neutralisiert. Der Nährboden wird sodann mit 10 ccm einer 10-proz. Sodalösung alkalisiert und weiterhin mit 10,0 chemisch reinem Milchzucker und 5 ccm filtrierter alkoholischer Fuchsinlösung versetzt. Zur Entfärbung des nunmehr rot gewordenen Nährbodens werden 25 ccm einer frisch bereiteten 10-proz. Natriumsulfitlösung verwendet.

Eine weitere bei den 30 Butterproben angewandte Untersuchungsmethode bestand in dem Ficker-Hoffmannschen Verfahren, das folgendermaßen benutzt wurde:

1. Lösung: 10,0 Nutrose in 80 ccm Aq. dest. steril.
2. „ : 5,0 Coffein in 20 ccm Aq. dest. steril.
3. „ : 0,1 Kristallviolett 0 — Höchst — in 100 ccm Aq. dest. steril.

200,0 g der bei 25—30° geschmolzenen Butter wurden in einen leicht angewärmten Kolben gebracht. Hierauf wurde Lösung 1 mit Lösung 2 zusammengeschüttet. Diese Mischung wurde in den die Butter enthaltenden Kolben gebracht. In die gut umgeschüttelte Masse wurden sodann 10 ccm von Lösung 3 gesetzt. Das Ganze verblieb 12 Stunden im Brutschrank. Zum Nachweis der Typhusbakterien wurden bei diesem Anreicherungsverfahren wiederum 6 Drigalski- und 6 Endo-Platten benutzt.

Verdächtige Kulturen wurden außer der gewöhnlichen Züchtungsmethode mit spezifisch agglutinierendem hochwertigem Immunsrum untersucht.

Die Resultate, die bei diesen Untersuchungen erzielt wurden, sind folgende:

Das Wachstum auf Drigalski-Nährboden, ohne Einschaltung des Anreicherungsverfahrens, war bei allen Arten ein schwaches. *Mucor*, *Penicillium*, *Oidium*, Milchsäurebakterien waren in ihrer Entwicklung bedeutend gehemmt. Im Gegensatz hierzu war das Wachstum auf Endoschem Agar ein bedeutend üppigeres. Alle Butterbakterien entwickelten sich auf dem Nährboden, ohne daß eine Wachstumshemmung gegenüber gewöhnlichem Agar und den übrigen Nährböden konstatiert werden konnte. Typhusbacillen konnten in keinem Falle gefunden werden.

Um das gewöhnliche Aufstrichverfahren, wie es bei den eben erwähnten Untersuchungen zur Anwendung kam, auch auf seine praktische Brauchbarkeit zu prüfen, wurden folgende Versuche angestellt:

Eine Platinöse einer 48-stündigen Typhusbouillonkultur wurde in 20 ccm sterile Bouillon gebracht und verweilte in dieser 24 Stunden bei 37°. 250,0 g Butter, 2 Tage alt, Säuregrad 3,1, ungesalzen, wurden

bei 35° geschmolzen, nachdem sie vorher in möglichst kleine Stückchen auf aseptischem Wege zerpreßt worden war. In die gleichmäßig geschmolzene Masse wurden die 20 ccm Typhusbouillonkultur gebracht und gleichmäßig verteilt. Von der so präparierten Butter wurden auf 15 mit Drigalski-Conradischem und auf 15 mit Endoschem Nährboden beschickten Platten nach der bereits geschilderten Methode Aufstriche angefertigt. Nach 24 und 48 Stunden wurden die Platten untersucht. Auf 2 Drigalski- und 3 Endo-Platten konnten Typhusbacillen nachgewiesen werden. Bei 4 weiteren, ebenso ausgeführten Versuchen (der Säuregrad und das Alter waren nahezu gleich) war das Resultat nicht weniger ungünstig, obwohl die Butter mit einer Menge von Typhusbacillen beschickt wurde, wie sie in praxi niemals vorkommen können. Ich bin deshalb der Meinung, daß nach dieser Methode der Typhusbacillennachweis in Butter (ebenso wird es in Milch sein) wohl nie ein Erfolg versprechender sein wird.

Bei dem Ficker-Hoffmannschen Verfahren gestalteten sich die Resultate wesentlich anders und machen es mit einiger Abänderung nach den bei den Versuchen gemachten Erfahrungen mehr geeignet zum Nachweis von Typhusbacillen in Butter, vielleicht auch in Milch, doch muß es in seiner Anwendung auf Milch noch geprüft werden. Bei dem Verfahren, daß 10 ccm der Kristallviolettlösung zu 250 g Butter gegeben wurden, war die Einwirkung auf die Schimmelpilze, *Actinomyces*, *Oidium* und die anderen Butterbakterien noch keine solche, daß eine Ueberwucherung dieser ziemlich schnell wachsenden Arten ausgeschlossen war. Ich versuchte aus diesem Grunde verschiedene Konzentrationen von Kristallviolett anzuwenden. Kokken und Sarcinen zeigten eine wesentliche Resistenz gegenüber dem Kristallviolett, was aus dem Umstand hervorgeht, daß selbst bei Anwendung von 100 ccm der Kristallviolettlösung (0,1 g in 100 ccm H₂O) ihr Wachstum in kaum bemerkbarer Weise gehemmt war, während bei dieser Konzentration Schimmel- und Hefepilze, *Actinomyces* und beinahe sämtliche Butterbakterienarten nur ganz spärlich auf Endoschem Agar angingen. Die Konzentration von 20 ccm Kristallviolettlösung auf 250 g Butter erwies sich am geeignetsten in Bezug auf Hemmung der Buttermikroorganismen und in Bezug auf Wachstum von Typhusbacillen, die in derselben Weise wie oben geschildert der Butter beigefügt worden waren. Noch ist hervorzuheben, daß anschließend an das Anreicherungsverfahren bei Verwendung von Drigalski-Nährboden weniger günstige Resultate erzielt wurden, als bei Verwendung von Endoschem Fuchsinagar.

Um einen Anhaltspunkt über die Lebensdauer von Typhusbacillen in Butter zu gewinnen, wurden folgende Versuche angestellt:

Gewöhnliche Milch, Säuregrad 8°, wurde mit dem Laboratoriumsseparator (Hansa-Separator Mignon) entrahmt und der Rahm in nicht angesäuertem Zustand zu Butter in einer sogenannten Haushaltsguttermaschine verarbeitet. 150 g bei 35° geschmolzener Butter wurden 10 ccm einer 24-stündigen Typhusbouillonkultur zugesetzt. Die Butter ließ man bei Zimmertemperatur in sterilem Gefäß starr werden, sodann wurde sie bei einer Temperatur von 5° aufgehoben. Nach 15 Tagen konnten keine Typhusbacillen mehr nachgewiesen werden. In einem weiteren ebenso angestellten Versuch gelang der Typhusbacillennachweis noch nach 10 Tagen. Um die Lebensdauer auch in Butter, die aus angesäuertem Rahm bereitet worden war, zu ersehen, wurden zu 2 Proben von je 250 g käuflich erworbener Butter je 10 ccm Typhusbouillonkultur

gesetzt. Bei der einen Probe gelang der Typhusbacillennachweis noch am 7. Tage nach der Versuchsanstellung, in der andern konnten am 10. Tage keine Typhusbacillen mehr nachgewiesen werden.

Bei allen diesen Versuchen ist aber immer in Betracht zu ziehen, daß es sich um eine ziemlich bedeutende Anzahl von Typhusbacillen handelt, die der Butter einverleibt wurden, eine Menge, wie sie in praktischen Fällen kaum anzunehmen sein wird.

II. Untersuchung auf Diphtheriebacillen.

Im Gegensatz zu Abbott fand Klein bei seinen Impfversuchen von Kühen mit Diphtheriebacillen letztere in der Milch der Versuchstiere und führt die von Tower (zitiert nach Klein) beschriebenen Milchdiphtherieepidemien als Belege an.

Die Untersuchung der hiesigen Marktbutter auf Diphtheriebacillen erfolgte durch Aufstreichen geschmolzener Butter auf Deyckeschem Alkali-Albuminat-Nährboden.

200,0 g fettfreies zerkleinertes Pferdefleisch werden mit 250 ccm 3-proz. Natronlauge versetzt und bis zur Lösung in den Brutschrank gestellt. Das Filtrat wird mit Salzsäure neutralisiert, auf 3 l verdünnt, 7,5 Chlornatrium, 150,0 Glycerin zugesetzt, mit Sodalösung alkalisiert und mit Agar zu einem Nährboden verarbeitet.

Ein weiterer Nährboden zur Isolierung der Diphtheriebacillen wurde nach Angabe von Deycke und Voigtländer folgendermaßen bereitet.

200,0 g fettfreies zerriebenes Pferdefleisch wurden mit 250 ccm 3-proz. Natronlauge im Brutschrank gelöst, filtriert, neutralisiert, mit 0,25 Proz. Natr. carbon. sicc. versetzt, sterilisiert und mit 50,0 Pankreassaft ca. 7—10 Stunden bei 37° verdaut, hierauf mit Salzsäure neutralisiert, mit Wasser auf 3 l verdünnt und mit Glycerin und Agar zu Nährböden verarbeitet. Der Pankreassaft war dadurch gewonnen worden, daß die zerkleinerte Pankreasdrüse eines Schweines 24 Stunden auf Eis gelegt, dann mit 40,0 Glycerin. pur. und 160,0 ccm Aq. dest. gemischt und 4 Tage stehen gelassen worden war. Aus dieser Mischung wurde der Saft ausgepreßt. Die Versuche wurden an 10 Butterproben ausgeführt. Diphtheriebacillen konnten in keinem Falle nachgewiesen werden.

III. Keimzahlbestimmung.

Methode.

Die Methode bei der Keimzahlbestimmung war folgende: 0,1—0,2 g der zu untersuchenden Butterprobe werden in ein sterilisiertes Wäagegläschen gebracht und Wäagegläschen und Butter auf der Analysenwage gewogen. Das Butterstückchen bringt man durch Klopfen an der Glaswand in ein sterilisiertes, mit 100 ccm Aq. dest. steril. gefülltes Erlénmayersches Kölbchen. Man wägt wiederum das Wäagegläschen und ermittelt aus der Differenz der beiden Wägungen die zur Untersuchung verwendete Menge Butterprobe. Das Aufspießen des Butterstückchens mit einem Platindraht, wie es LaFar empfiehlt, fand ich nicht für geeignet, da die an dem Platindraht haften bleibenden Butterspartikel sich sehr schwer entfernen lassen, so daß man ungenaue Resultate erhält. Das Erlénmayer-Kölbchen bringt man in ein Wasserbad von 30—35°. Sobald der Inhalt des Kölbchens die Temperatur des Butterschmelzpunktes besitzt, schüttelt man, um eine gleichmäßige Emulsion zu erhalten. Von letzterer gießt man in Mengen von 0,5 ccm mehrere Nähr-

Tabelle I.

| Tag der Untersuchung | Alter der Butter | Keimzahl | | | Bemerkungen |
|----------------------|------------------|------------|------------|------------|---|
| | | Platte I | Platte II | Platte III | |
| Butterprobe I. | | | | | |
| 2. Nov. 1904 | 3 Tage | 12 313 420 | 17 817 217 | 17 739 710 | |
| 6. " " | 7 " | 18 470 315 | 15 360 000 | 14 614 173 | |
| 12. " " | 13 " | 33 611 322 | 30 415 920 | verlaufen | Butter besitzt gelbe Farbe und stark ranzigen Geruch. |
| 27. " " | 28 " | 4 600 282 | 4 866 141 | 4 346 457 | Ranziges Aussehen. Stark saurer Geruch. |
| 11. Dez. " | 42 " | 1 773 972 | 1 287 671 | 1 460 740 | |
| Butterprobe II. | | | | | |
| 3. Nov. 1904 | 2 Tage | 16 732 372 | 14 892 520 | 14 741 917 | |
| 12. " " | 11 " | 3 250 204 | 4 220 416 | 2 375 304 | |
| 20. " " | 19 " | 682 433 | 675 680 | 459 461 | Gelbes Aussehen. Wenig ranziger Geruch. |
| 27. " " | 26 " | 7 639 257 | 10 025 532 | 9 655 318 | Ranziges Aussehen. Wenig ranziger Geruch. |
| 4. Dez. " | 33 " | 2 392 480 | 2 468 419 | 3 639 774 | desgl. |
| 11. " " | 40 " | 1 696 000 | 2 384 000 | 2 104 501 | desgl. |
| Butterprobe III. | | | | | |
| 7. Nov. 1904 | 2 Tage | 12 360 400 | 12 917 312 | 12 920 721 | |
| 12. " " | 7 " | 11 736 593 | 9 274 448 | 8 706 624 | |
| 20. " " | 15 " | 26 473 149 | 24 398 419 | 24 304 217 | Gelbe Farbe. Ranziger Geruch. |
| 27. " " | 22 " | 21 033 708 | 20 140 738 | verlaufen | Ranziger Geruch. Ranziges Aussehen. |
| 4. Dez. " | 29 " | 2 957 547 | 4 188 679 | 3 613 208 | desgl. |
| 11. " " | 36 " | 1 689 243 | 964 143 | 1 035 857 | desgl. |
| Butterprobe IV. | | | | | |
| 9. Nov. 1904 | 3 Tage | 20 653 098 | 22 178 410 | 24 133 210 | |
| 12. " " | 6 " | 15 583 333 | 14 540 210 | 13 682 421 | Außenseite ranzig. |
| 20. " " | 14 " | 30 400 201 | 32 459 016 | 33 524 690 | Ranziges Aussehen. Ranziger Geruch. |
| 27. " " | 21 " | 27 282 102 | 31 730 292 | 26 401 213 | desgl. |
| 4. Dez. " | 28 " | 19 482 913 | 18 743 217 | verlaufen | desgl. |
| 11. " " | 35 " | 16 319 723 | 14 268 329 | 15 749 312 | desgl. |
| 17. " " | 41 " | 4 212 302 | 2 679 739 | 2 415 509 | desgl. |
| Butterprobe V. | | | | | |
| 10. Nov. 1904 | 2 Tage | 7 721 314 | 6 942 421 | 6 792 342 | |
| 12. " " | 4 " | 6 824 644 | 9 099 526 | 5 687 204 | |
| 20. " " | 12 " | 6 420 314 | 5 467 491 | 6 482 401 | Schwach saurer Geruch. |
| 27. " " | 19 " | 19 653 220 | 16 824 104 | 13 862 912 | Schwach saurer Geruch. Ranziges Aussehen. |
| 4. Dez. " | 26 " | 17 168 937 | 16 731 903 | 16 640 300 | |
| 11. " " | 33 " | 4 035 026 | 3 873 906 | 3 453 590 | |
| Butterprobe VI. | | | | | |
| 12. Nov. 1904 | 4 Tage | 14 217 980 | 14 502 482 | 14 383 317 | |
| 20. " " | 10 " | 9 694 915 | 10 644 068 | verlaufen | |
| 27. " " | 17 " | 23 990 762 | 24 138 568 | 23 963 049 | Wenig saurer Geruch. Weißschmieriges Aussehen. |
| 3. Dez. " | 23 " | 11 963 303 | 11 761 468 | 11 302 752 | |
| 11. " " | 31 " | 4 209 312 | 3 206 419 | verlaufen | |
| 18. " " | 38 " | 1 912 000 | 2 304 293 | " | |

| Tag der Untersuchung | Alter der Butter | Keimzahl | | | Bemerkungen |
|--------------------------|------------------|------------|------------|------------|--|
| | | Platte I | Platte II | Platte III | |
| Butterprobe VII. | | | | | |
| 14. Nov. 1904 | 4 Tage | 13 188 400 | 17 065 217 | 11 920 291 | Gelblich. Ranziger Geruch. Ranziger Geruch. Ranziges Aussehen. |
| 20. " " | 10 " | 12 035 731 | 12 129 976 | 10 904 310 | |
| 27. " " | 17 " | 36 257 143 | 29 142 857 | 34 418 371 | |
| 4. Dez. " | 24 " | 34 842 434 | 35 675 241 | 35 163 987 | |
| 11. " " | 31 " | 19 374 902 | 19 218 784 | verlaufen | |
| 18. " " | 38 " | 9 207 403 | 9 087 619 | 8 942 271 | |
| Butterprobe VIII. | | | | | |
| 17. Nov. 1904 | 2 Tage | 9 647 167 | 10 170 380 | 9 443 676 | Weiße Farbe. Säuerlicher Geruch. Wenig säuerlicher Geruch. Ranziges Aussehen. |
| 20. " " | 5 " | 10 420 339 | 10 352 542 | 10 298 305 | |
| 27. " " | 12 " | 17 906 830 | 20 034 483 | 19 412 585 | |
| 3. Dez. " | 18 " | 24 444 606 | 23 903 430 | verlaufen | |
| 11. " " | 26 " | 11 150 943 | 10 811 321 | 10 849 057 | |
| 18. " " | 33 " | 7 391 402 | 8 491 318 | 8 204 430 | |
| Butterprobe IX. | | | | | |
| 18. Nov. 1904 | 2 Tage | 13 071 104 | 10 529 501 | 13 434 191 | |
| 20. " " | 4 " | 5 313 653 | 6 789 667 | 5 840 119 | |
| 27. " " | 11 " | 6 777 408 | 5 271 318 | 5 227 021 | |
| 3. Dez. " | 17 " | 23 416 592 | 21 904 314 | 24 201 633 | |
| 11. " " | 25 " | 3 230 145 | 2 820 492 | 2 832 972 | |
| 18. " " | 32 " | 1 613 411 | 1 829 701 | verlaufen | |
| Butterprobe X. | | | | | |
| 19. Nov. 1904 | 3 Tage | 10 521 620 | 12 929 117 | 12 833 170 | |
| 27. " " | 11 " | 1 464 372 | 1 234 417 | 1 656 655 | |
| 3. Dez. " | 17 " | 20 584 906 | 19 139 400 | 20 630 311 | |
| 11. " " | 25 " | 8 656 934 | 8 291 970 | 9 343 723 | |
| 18. " " | 32 " | 2 412 734 | 1 670 116 | 2 349 876 | |
| Butterprobe XI. | | | | | |
| 22. Nov. 1904 | 3 Tage | 9 979 713 | 9 439 603 | 9 819 561 | |
| 27. " " | 8 " | 6 964 795 | 6 203 615 | 6 774 501 | |
| 3. Dez. " | 14 " | 5 198 443 | 5 645 914 | 5 878 080 | |
| 11. " " | 22 " | 19 366 409 | 19 240 723 | 20 419 521 | |
| 18. " " | 29 " | 8 213 642 | 7 632 117 | — | |
| Butterprobe XII. | | | | | |
| 24. Nov. 1904 | 4 Tage | 8 997 929 | 8 420 322 | 9 816 130 | |
| 27. " " | 7 " | 4 722 568 | 3 995 859 | 3 820 239 | |
| 3. Dez. " | 13 " | 3 200 017 | 4 204 239 | 2 617 344 | |
| 11. " " | 21 " | 14 682 927 | 15 170 730 | 17 292 683 | |
| 18. " " | 28 " | 2 413 804 | 4 912 713 | 4 643 133 | |
| Butterprobe XIII. | | | | | |
| 25. Nov. 1904 | 2 Tage | 9 471 691 | 10 200 419 | 10 193 677 | |
| 3. Dez. " | 10 " | 6 441 730 | 7 119 476 | 7 204 116 | |
| 11. " " | 18 " | 15 763 214 | 17 320 492 | 17 619 400 | |
| 18. " " | 25 " | 10 424 963 | 10 219 417 | — | |
| Butterprobe XIV. | | | | | |
| 28. Nov. 1904 | 4 Tage | 9 899 706 | 9 498 777 | 10 430 318 | |
| 3. Dez. " | 9 " | 6 534 381 | 4 471 513 | 4 526 522 | |
| 11. " " | 17 " | 17 634 917 | 15 463 141 | — | |
| 18. " " | 24 " | 9 102 473 | 9 804 344 | 7 637 439 | |
| Butterprobe XV. | | | | | |
| 1. Dez. 1904 | 2 Tage | 10 411 361 | 10 777 349 | 10 729 796 | |
| 3. " " | 4 " | 6 497 385 | 7 633 966 | 7 413 561 | |
| 11. " " | 12 " | 28 455 282 | 25 609 756 | 26 357 723 | |
| 18. " " | 19 " | 10 389 761 | 10 750 619 | 10 499 744 | |

Tabelle II.
Temperaturen- und Feuchtigkeitstabelle (im oberen Schrank).

| Datum | C ° | | Feuchtigkeit Proz. | | Datum | C ° | | Feuchtigkeit Proz. | |
|-------|---------|--------|-----------------------|--------|-------|---------|--------|-----------------------|--------|
| | morgens | abends | morgens | abends | | morgens | abends | morgens | abends |
| 1904 | | | | | Nov. | | | | |
| Nov. | | | | | 25. | 9 | 8 | 53 | 56 |
| 1. | 12 | 13,5 | 56 | 57 | 26. | 7 | 8 | 54 | 56 |
| 2. | 12 | 12 | 60 | 59 | 27. | 8 | 8 | 55 | 58 |
| 3. | 11 | 15 | 58 | 61 | 28. | 8,5 | 8 | 51 | 53 |
| 4. | 11 | 13 | 59 | 58 | 29. | 6 | 9 | 52 | 55 |
| 5. | 11,5 | 13,5 | 59 | 62 | 30. | 7 | 8 | 58 | 59 |
| 6. | 10,5 | 11,5 | 58 | 56 | Dez. | | | | |
| 7. | 9,5 | 11,5 | 57 | 61 | 1. | 6 | 9 | 55 | 57 |
| 8. | 12 | 12,5 | 62 | 58 | 2. | 11 | 11 | 58 | 59 |
| 9. | 12 | 13 | 56 | 58 | 3. | 9 | 11 | 56 | 58 |
| 10. | 14 | 14 | 61 | 68 | 4. | 11 | 12 | 58 | 60 |
| 11. | 13,5 | 13,5 | 55 | 57 | 5. | 10 | 11 | 60 | 59 |
| 12. | 14 | 14 | 68 | 64 | 6. | 11 | 9 | 50 | 53 |
| 13. | 13,5 | 13,5 | 56 | 63 | 7. | 10 | 11 | 51 | 49 |
| 14. | 11,5 | 13 | 51 | 56 | 8. | 7 | 10 | 50 | 53 |
| 15. | 9 | 10,5 | 48 | 54 | 9. | 9 | 10 | 51 | 54 |
| 16. | 10 | 10 | 49 | 56 | 10. | 8 | 11 | 50 | 52 |
| 17. | 8 | 9 | 48 | 54 | 11. | 9 | 11 | 52 | 51 |
| 18. | 9 | 9 | 49 | 51 | 12. | 10 | 10 | 50 | 54 |
| 19. | 8 | 7 | 49 | 56 | 13. | 11 | 13 | 55 | 57 |
| 20. | 7 | 10 | 49 | 50 | 14. | 12 | 13 | 54 | 56 |
| 21. | 9 | 10 | 51 | 56 | 15. | 10 | 12 | 53 | 55 |
| 22. | 10 | 12 | 52 | 58 | 16. | 11 | 12 | 51 | 53 |
| 23. | 11 | 10,5 | 54 | 55 | 17. | 10 | 12 | 50 | 53 |
| 24. | 7 | 9 | 55 | 61 | 18. | 10 | 11 | 52 | 54 |

bodenplatten in der üblichen Weise. Zweckmäßig ist das Verwenden von Gelatine als Nährboden, da nach meinen Erfahrungen die Keimzahlen bei der Butter, die auf Agar-Nährboden bestimmt wurden, immer bedeutend kleiner ausfielen.

So fand ich z. B. bei einer auf Agar und Gelatine ausgeführten Bestimmung folgende Zahlen:

| Butterpr. III. | Pl. I | | Pl. II | | Pl. III | |
|----------------|-------|---------|--------|---------|---------|---------|
| Gelatine | 12 | 360 400 | 12 | 917 312 | 12 | 920 721 |
| Agar | 6 | 199 153 | 3 | 424 354 | 5 | 667 896 |

Das Zählen der Platten erfolgte zum erstenmale 3 Tage nach Herstellung der Platten. Weiterhin wurden an den folgenden Tagen Zählungen vorgenommen, bis eine annähernde Konstanz gefunden wurde.

Beiden Untersuchungen der Butterproben in verschiedenen Zeiträumen (Tab. I, II, III) wurde in folgender Weise verfahren: Die Butter wurde am Einkaufstage, dem Tage der ersten Untersuchung, in gleichmäßigen, ungefähr 2 cm langen, ebenso breiten, 1/2 cm dicken Stückchen in 5 bis 6 sterile Schälchen gebracht. Die Schälchen wurden in einem dunklen Raume aufbewahrt, dessen Temperatur und Feuchtigkeitsgehalt täglich 2 mal (morgens und abends) mittelst Thermometer und Lamprechts Polymer bestimmt wurde (Tab. II). An den Untersuchungstagen wurden aus der Mitte der Butterproben Stückchen zur quantitativen Untersuchung benutzt.

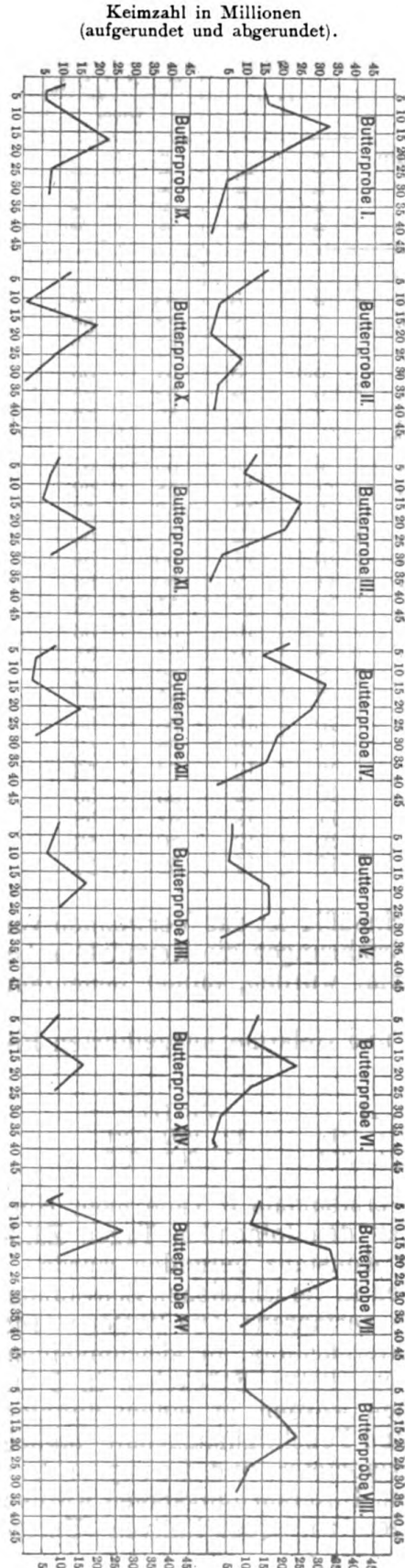
Die Mikroorganismen frischer und alter Butter, ihre Herkunft etc.

Bei der Beantwortung der Frage betr. den Ursprung der in der Butter vorhandenen Mikroorganismen werden wir in erster Linie unser Augenmerk auf das Material zu richten haben, aus dem die Butter gewonnen wird, auf die Milch. Die Milchflora bildet den wesentlichsten Teil der in der Butter vorhandenen Bakterienarten. Verarbeitung nicht pasteurisierter Milch zu Butter ist ja, wie die Untersuchungen von Poehl, Bang, Wyss und Roth, Scheuerlen, Wilckens ergeben haben, geradezu ein Anreicherungsverfahren der Milchbakterien. Die durch das Zentrifugieren in den Rahm übergehenden Bakterien übersteigen bei weitem an Zahl die im Milchschnitt vorhandenen Mikroorganismen.

Die Herkunft der in der Milch vorkommenden pflanzlichen Kleinlebewesen haben wir in Verschiedenem zu suchen. Die Frage über den Keimgehalt der Milch im Euter dürfte nach den vielen diesbezüglichen Untersuchungen¹⁾ (Lister, Meissner, Escherich, Basenau, Basch und Weleminsky, Schulz, Larsen, Barthel, Boekhout und de Vries, Backhaus und Appel, Ward, Conn, Esten, v. Freudenreich, Thöni, Harrison, Kitt, Steiger, Reed, Gernhardt, Burr, Uhlmann, Lux, Rieder) dahin als erledigt gelten, daß sich eine absolut keimfreie Milch selbst bei größtmöglicher Asepsis nicht gewinnen läßt, da bereits das Euter und das Drüsengewebe eine größere Anzahl von Bakterien beherbergt. Immerhin steht die bakterielle Verunreinigung der Milch im Euter weit hinter der zurück, welche die Milch außerhalb des Euters, im Stall, in den Gefäßen u. s. w. erhält.

1) Literatur cf. Handbuch der technischen Mykologie, herausgeb. von La far, 2. Bd.

Tabelle III. Tage.



Die Keimzahl der mit größter Sorgfalt gewonnenen Milch berechnet v. Freudenreich zu 230 (Durchschnitt von 18 Melkungen), Marshall zu 295 und Russell zu 330 im Kubikcentimeter. Weitere Untersuchungen zur Erniedrigung der Milchkeimzahl durch möglichst reinliche Gewinnung der Milch sind von Schulz, Backhaus und Appel, Gernhardt, Bitter, Park, Harrison, Eckles, Misson, Barthel, Sönnroth, Weigmann und Zorn gemacht worden, nach denen folgende Grenzen anzunehmen sind:

| | Sofort nach der Melkung |
|-------------------------------------|-------------------------|
| Für sehr reinlich gewonnene Milch | 6000 — 10 000 im ccm |
| Für reinlich gewonnene Milch | 10 000 — 25 000 " " |
| Auf gewöhnliche Art gewonnene Milch | 25 000 — 50 000 " " |

Außer der Keimzahl, die naturgemäß nach kurzer Zeit je nach der Art der Milchaufbewahrung auf ein Vielfaches wächst, sind die Arten der in der frisch gemolkene Milch und der in der gewöhnlichen, also von außen her verunreinigten Milch vorkommenden Bakterienarten bei der weiteren Verarbeitung der Milch zu Butter von Interesse.

Fokker, v. Freudenreich und Thöni, Lux, Burr, Appel, Thiele, Goethart, Gorini, Conn und Esten, Burri, Bolley und Hall, Weigmann, Barthel untersuchten die Beziehungen der Milchbakterienarten zu den in der Umgebung der Milch vegetierenden Arten (Luft, Milchgefäße, Kot, Streu, Futter). Die aseptisch gewonnene Milch enthält nach den Untersuchungen eben genannter Autoren meist Kokken (*Staphylococcus mastitis albus*, *Staphylococcus mastitis aureus*). Von den Milchsäurebakterien, deren Vorhandensein nur in sehr wenig Fällen in frisch gemolkener Milch konstatiert werden konnte, fand Conn in geringer Menge *Bacillus acidilactici* II, und *Bact. lactis aërogenes*. Die Verunreinigung seitens der Stallluft, der Streu, des Kots, des Futters sind *Micrococcus candicans* (Flügge), *Bac. subtilis*, *Bac. coli commune*, Proteus-Arten, *Oidium lactis*, Eumyceten und Saccharomyceten.

Die anderen in der Butter von den Autoren vorgefundenen Mikroorganismen werden ihren Hauptursprung im Wasser haben, mit dem die Butter bei ihrer Herstellung öfters in Berührung kommt. Zu diesen Wasserbakterienarten, die teilweise in der Butter eine Konstanz in der Varietät, aber doch eine deutliche Verwandtschaft zeigen, rechnet man: *Bacillus prodigiosus*, *Bac. butyri fluorescens liquefaciens* Lafar, *Bact. colloideum* Laf., *Bac. microbutyricus liquefaciens* Jensen, *Cladosporium butyri* Jensen, Actinomyces- (*Streptothrix*-)Arten (*Streptothrix alba*, *Streptothrix chromogena*) Sarcina-Arten.

Zu bemerken ist noch, daß die „Säurewecker“, die im Molkereibetriebe mit Recht immer größere Verwendung finden, gewöhnlich keine Reinkulturen von Milchsäurebakterien sind. M. Grimm (vergl. auch Sewerin) konstatierte bei seinen diesbezüglichen bakteriologischen Analysen folgendes:

1) Der innere bakteriologische Gehalt ein und derselben Reinkultur (d. h. von einem und demselben Laboratorium verfertigt) erleidet öfters absichtliche Veränderungen seitens der betreffenden Laboratorien und Fabrikanten. So hat Weigmann in seinen Kulturen in den früheren Jahren ein Gemisch von verschiedenen Milchsäurebildnern gehabt, seit letztem Jahr jedoch hat er sich auf eine einzige Art (cf. an späterer Stelle

dieser Arbeit bei Aromabildung) beschränkt. Die Kultur von Hansen-Kopenhagen enthielt früher neben Milchsäurebakterien stets eine Milchhefe.

2) Die flüssigen Kulturen sind stets den trockenen überlegen. In den Hansenschen Trockenkultur fand Verf. stets rote *Torula*, *Sarcina*-Arten, oft *Penicillium*, ja sogar verflüssigende Bakterien, während die flüssige Kultur rein ist.

Das Aroma der Butter bildete den Ausgang mehrfacher mikrobiologischer Untersuchungen, die noch keinen für die Molkereipraxis befriedigenden Abschluß gefunden haben. Conns *Bacillus* No. 41 scheint in naher Beziehung zu dem von Grimm gefundenen *Bacillus aromaticus* zu stehen, ebenso zu dem von Keith beschriebenen *Micrococcus butyriaromafaciens*, dem *Bact. esterificans* Stralauense Maassen, dem *Bact. aromaticus butyri* Sewerin, dem *Bact. Fragi* Eichholz, der *Pseudomonas fragariae* Gruber. Alle haben miteinander gemein, daß sie der Fähigkeit, Aroma zu erzeugen, verlustig gehen können. Die Hauptresultate Conns über das Butteraroma lassen sich nach Weigmann in folgende Sätze zusammenfassen:

1) Die Wirkung der im reifenden Rahm sich vorfindenden Bakterien auf das Aroma der Butter ist verschieden, die meisten von ihnen geben eine gute Butter, keines von ihnen gibt für sich allein angewendet ein typisches Butteraroma.

2) Der *Bacillus* No. 41, welcher nicht zu den Säuerungsbakterien gehört, gibt, in nicht präparierten Rahm eingesät, eine Butter mit starkem typischen Butteraroma.

3) Die Bildung von Butteraroma ist unabhängig von Säurebildung im reifenden Rahm.

4) Der Rahm der gewöhnlichen Meiereien enthält Bakterien, deren Mehrzahl auf Geschmack und Aroma der Butter einen guten Einfluß hat oder für diese Eigenschaften nicht nachteilig ist; sie sind übereinstimmend mit der besten Qualität Butter. Dieser Typus von Bakterien, welcher sich im Rahm der gewöhnlichen Meiereien findet und welche das Aroma günstig beeinflussen, sind Bakterien, welche nicht dem Typus der Milchsäure- oder überhaupt Säurebakterien, sondern dem der eiweißzersetzenden Bakterien angehören.

Weigmanns Ausführungen über das Butteraroma gipfeln nach seinen Angaben in folgenden Sätzen:

1) Das bei der spontanen Rahmsäuerung entstehende Aroma verdankt seinen Ursprung nicht allein den Milchsäurebakterien, sondern hat noch andere Quellen.

2) Das Aroma der Butter ist in den gewöhnlichen und allermeisten Fällen nicht das Produkt einer einzelnen Pilz- oder Bakterienart, sondern die Summe der aromatischen Produkte aller in der Milch lebenden Mikroorganismen, und zwar nicht von selten in der Milch zu findenden Bakterienarten, sondern von den gewöhnlichen, in fast jeder rein gewonnenen und gut behandelten Milch sich vorfindenden Organismen.

3) Das Aroma der im normalen Betriebe gewonnenen Butter wird von Organismen zweier Kategorien gebildet, deren eine aus Säure und Fruchtester bildenden Organismen und deren andere aus eiweißzersetzenden und dabei wohlriechende und wohlschmeckende Stoffe erzeugenden Organismen besteht.

4) Diese beiden Kategorien, durch eine oder mehrere Arten vertreten, müssen sich in ihrer Wirkung gegenseitig ergänzen und ihre einseitigen Eigenschaften gegenseitig neutralisieren. Es ist also von jeder

Kategorie wenigstens eine Art notwendig, um nicht eine einseitige Wirkung zu stande kommen zu lassen.

5) Diese das Butteraroma erzeugenden Organismen dürfen in ihrer Gesamtsumme ein gewisses Mengeverhältnis gegenüber den Milchsäurebakterien nicht überschreiten, weil ihre Nebeneigenschaften (Nebenwirkungen auf die Bestandteile der Milch) zu sehr zum Ausdruck kommen und fehlerhafte Erscheinungen (Butterfehler) hervorrufen.

Die schadhafte Einwirkungen von Bakterien auf Milch und Rahm gaben zu einer Menge von Arbeiten Anlaß.

Bacillus foetidus lactis Jensen, *Micrococcus Freudenreichi*, *Bacterium Hessii*, *Bact. lactis viscosus* (Adamez), *Actinobacterium lactis viscosum* (Duclaux), *Micrococcus prodigosus*, *Bact. lactis erythrogenes*, *Bac. cyanogenus*, *Bac. synxanthus*, *Bac. mesentericus vulgatus*, *Bac. Guillebeau*, *Bac. liquefaciens lactis amari*, *Micr. casei amari*, *Micr. Sornthalii*, *Bact. lactis longi*, wurden als solche Schädlinge des Molkereibetriebes gekennzeichnet.

Ein weiteres mannigfach bearbeitetes Gebiet liegt in der Aufklärung über die Vorgänge beim Ranzigwerden der Butter. Untersuchungen über diesen Gegenstand wurden von folgenden Autoren gemacht: Berthelot, Liebig, Duclaux, Groelger, Fabrion, Schaffer, Amthor, Mjöen, Ritsert, Lafar, H. Schmidt, v. Klecki, Reinmann, Bondzynski und Rufi, Hanus und Stocky, Grippeberg, Rogers, Laxa, Rubner, Salkowski, Scala und Jacoangeli, Weigmann und Backe, Windisch, Kirsten, v. Raumer, Somaruga, Krüger, Löwig, v. Kopp, v. Fehling, Hagemann, Schädler, Wiel und Gnehm, Soxhlet, Virchow, Escherich, Müller, Lüdy, Gottstein, Gröger, Fermi, Benedikt, Beilstein, Baumann, Sigismund, Späth, Stutzer, v. Freudenreich.

Ich gebe im folgenden die Hauptresultate der wichtigsten neueren Untersuchungen wieder.

H. Schmidt faßt seine Angaben über das Ranzigwerden in seiner Arbeit „Ueber die Haltbarkeit der Butter“ in folgendem zusammen:

„Bei der Aufbewahrung im Sonnenlicht trat in der Butter das Ranzigwerden am raschesten auf und erreicht die höchsten Beträge. Nach dem Sonnenlichte begünstigte die Aufbewahrung im Brutschrank bei einer Temperatur von 23° im Dunkeln am meisten.

Am besten schützte vor dem Ranzigwerden die Aufbewahrung im Eisschrank. Butter aus gewöhnlichem Rahm wurde rascher und erheblicher ranzig als Butter aus pasteurisiertem Rahm und zwar gewinnt die Butter an Haltbarkeit, wenn das Pasteurisieren bei höheren Temperaturen bewirkt worden ist.

Gesalzene Butter wurde weniger rasch und weniger stark ranzig als ungesalzene. Bisweilen erwies sich das Salzen aber weniger wirksam wie das Pasteurisieren.

Die beste Haltbarkeit erreicht man durch Verbindung des Rahmpasteurisierens mit dem Salzen der Butter und der Aufbewahrung in der Kälte. Derart behandelte Butter war am 15. Tage noch normal, am 30. Tage erst ganz schwach ranzig, aber selbst am 70. Tage noch genießbar.“

Reinmann resumierte seine Untersuchungen wie folgt:

1) Die Menge der in der Butter sich bildenden freien Säuren steht mit dem ranzigen Geschmack und auch Geruch in keiner Beziehung.

2) Ein hoher Gehalt der Butter an Kasein und Milchzucker beschleunigt sehr das Ranzigwerden.

3) Dem Luftsauerstoff kommt beim Ranzigwerden der Butter direkt nicht jene Bedeutung zu, welche ihm von anderer Seite beigelegt wurde, da Sterilrahmbutter auch bei freiem Luftzutritt nicht ranzig wird.

4) Das Licht spielt beim Ranzigwerden der Butter anscheinend überhaupt keine Rolle.

5) Die aus sterilisiertem Rahm hergestellte Butter wird unter gewöhnlichen Verhältnissen nicht ranzig. Man kann sie aber in wenigen Tagen ranzig machen durch Zukneten einer sehr geringen Menge ranziger Butter.

6) Die Frage, ob das Ranzigwerden der Butter durch Mikroorganismen oder Fermente bedingt wird, ist zur Zeit nicht zu unterscheiden.

Die Hauptresultate von den Studien Orla Jensens über das Ranzigwerden sind folgende:

„Die Luft spielt eine direkte Rolle bei dem Verderben der Butter nur, wenn diese dem Sonnenlicht oder einer höheren Temperatur ausgesetzt ist. Die Butter wird dann oxydiert und bekommt dadurch einen sehr unangenehmen Geschmack und Geruch, aber sie wird nicht ranzig.

Ranzig wird die Butter nur durch die Einwirkung gewisser Mikroorganismen. Da diese alle luftbedürftig sind, schreitet das Ranzigwerden der Butter von außen nach innen ganz wie die Reifung der Weichkäse vor. Für das Konservieren der Butter ist es somit angezeigt, sie hermetisch zu verpacken oder ihr jedenfalls eine so geringe Oberfläche wie möglich zu geben, d. h. sie in großen Stücken aufzubewahren. Soll die Butter zum Zwecke des Kleinverkaufs in kleine Stücke geformt werden, so ist die Würfelform wegen ihrer relativ kleinen Oberfläche den üblichen Formen vorzuziehen. Die Mikroorganismen, welche unter gewöhnlichen Verhältnissen das Ranzigwerden der Butter hervorrufen, sind *Oidium lactis*, *Cladosporium butyri*, *Bac. fluorescens liquefaciens* und zuweilen auch *Bac. prodigosus*. Alle spalten sie das Butterfett. Die flüchtigen Fettsäuren werden anfänglich von den Bakterien und später durch das Zusammenwirken der zwei Schimmelpilze gebildet. Durch dieses Zusammenwirken entstehen auch die Buttersäureester.

Mittelst Kochsalzes kann man die Bildung von flüchtigen Fettsäuren und mittels Milchzuckers die Esterbildung einschränken. Ob man durch die vereinigte Wirkung dieser zwei Substanzen das Ranzigwerden ganz vermeiden könnte, wäre noch zu untersuchen.

Bei dem häufigen Vorkommen von *Bac. fluorescens liquefaciens* und *Bac. prodigosus* im Wasser ist anzunehmen, daß sie mit dem Wasser in die Butter gelangen. Da jedoch *Bac. fluorescens liquefaciens* weit häufiger im Wasser anzutreffen ist, wird man ihn auch viel öfter in der Butter finden. Was *Oidium lactis* und *Cladosporium butyri* betrifft, so stammen sie, wie dies bei jeder Schimmelpilzinfektion der Fall ist, ohne Zweifel aus der Luft (? der Verf.). In der Luft der Molkereien werden jedenfalls *Oidium lactis* immer reichlich vorhanden sein.

Um eine haltbare Butter herzustellen, muß man deshalb die Milch, den Rahm und die Butter so wenig wie möglich mit Wasser in Berührung bringen und der Luft aussetzen.

Durch Ansäuern des Rahms vermindert man die Gefahr, die eine

Wasserinfektion mit sich bringt, in bedeutendem Maße, doch muß man zu diesem Zwecke wirkliche „Reinkulturen“ von Milchsäurefermenten verwenden, denn mit unreinen Säureweckern riskiert man, eine starke Schimmelpilzinfektion herbeizuführen.

Durch Pasteurisierung des Rahms bei 85° C zerstört man alle die für die Haltbarkeit der Butter schädlichen Mikroorganismen, kühlt man aber nachher den Rahm ab, indem man ihn in dünner Schicht über den Kühlapparat bei unbehindertem Luftzutritt herabrinnen läßt und bewahrt ihn in offenen Gefäßen längere Zeit auf, so setzt man ihn einer Luftinfektion aus, und wäscht man ferner die Butter mit ungekochtem Wasser, so läuft man die Gefahr einer Wasserinfektion. Das ganze Pasteurisieren kann somit unter ungünstigen Verhältnissen ganz illusorisch gemacht werden.

Will man mit Sicherheit arbeiten, so wird es notwendig sein, den pasteurisierten Rahm in geschlossenen, von sterilisierter (filtrierter) Luft durchströmten Kühlern (auch ökonomisch wegen der Isolation gegen die äußere warme Luft! der Verf.) abzukühlen, die Rahmtonne immer gut zugedeckt zu halten und die Butter nur mit ausgekochtem Wasser in Berührung kommen zu lassen.“

Laxa machte Untersuchungen über die Spaltung des Butterfetts durch folgende Mikroorganismen: *Oidium lactis*, *Penicillium glaucum* (aus Gorgonzolakäse gezüchtet), *Mucor* (aus schimmligem Käse), *Saccharomyces* (aus Backsteinkäse), *Tyrothrix tenuis* (Duciaux), *Tyrothrix* sp. (aus schlecht sterilisiertem Käse gezüchtet), zwei Bacillenarten (aus Backsteinkäse isoliert), *Bac. fluorescens liquefaciens*, *Bac. α* (von Prof. v. Freudenreich aus Emmenthaler Käse isoliert), *Streptococcus* sp., *Sarcina* sp. (beide aus Backsteinkäse gezüchtet).

Bac. α, *Streptococcus* sp. und *Sarcina* sp. waren Milchsäurebakterien, *Tyrothrix tenuis*, *Tyrothrix* sp., *Bac. fluorescens liquefaciens* und die zwei Bacillenarten sind kaseinpeptonisierende Bakterien.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Einige Bemerkungen über die Rostpilzflora Australiens.

Von Dr. P. Dietel, Glauchau.

In seinem schönen, soeben erschienenen Werke „The Rusts of Australia“ hat uns Herr Prof. D. McAlpine ein dem gegenwärtigen Stand der Kenntnisse entsprechendes Bild der Uredineenflora Australiens entworfen. Es sei gestattet, hier einige kurze Bemerkungen daran zu knüpfen und namentlich einen charakteristischen Zug derselben zu besprechen, nämlich ihre auffallende Armut an Arten sowohl als auch besonders an Gattungen.

Eine besonders hervorstechende Artengruppe bilden die in Australien einheimischen Puccinien auf Kompositen. Im ganzen zählt McAlpine 21 Arten auf Kompositen auf. Von diesen sind nach seinen eigenen Angaben als eingeführt die folgenden zu betrachten resp. nachgewiesen:

Puccinia chrysanthemi Roze, *Pucc. cichorii* (DC.) Bell., *Pucc. cyani* (Schleich.) Pass., *Pucc. hypochoeridis* Oud., *Pucc. helianthi* Schw. und *Pucc. prenanthis* (Pers.) Lindr. Als solche Arten ferner, die auch anderwärts bekannt geworden, aber nicht als eingeführt anzusehen sind, werden nur genannt *Puccinia Kalchbrenneri* DeToni auf *Helichrysum* (bisher nur aus Afrika bekannt) und *Puccinia gnaphalii* (Speg.) P. Henn. (bisher nur in Südamerika gefunden). Es bleiben sonach 13 endemische Arten übrig, nämlich *Puccinia angustifoliae* McAlp. auf *Scorzonera*, *Pucc. brachycomes* McAlp., *Pucc. calocephali* McAlp., *Pucc. calendulae* McAlp., *Pucc. calotidis* McAlp., *Pucc. cinerariae* McAlp., *Pucc. distincta* McAlp. auf *Bellis perennis*, *Pucc. erectitis* McAlp., *Pucc. lagenophorae* Cke (= *Pucc. McAlpini* Syd.), *Pucc. podolepidis* McAlp., *Pucc. tasmanica* Diet. auf *Senecio*, *Pucc. vittadiniae* McAlp. und *Pucc. oleariae* McAlp. Diese Species, mit Ausnahme der letztgenannten, bilden nun eine durch große Gleichförmigkeit ihrer morphologischen und biologischen Verhältnisse ausgezeichnete Gruppe. Sie besitzen nur Aecidien und Teleutosporen, aber keine Uredo-Generation. Für mehrere von ihnen wird angegeben, daß die Aecidien das ganze Jahr hindurch, mit Ausnahme des Hochsommers, reichlich gefunden werden. Man wird also auch ohne experimentellen Nachweis — da es sich nicht um Arten mit perennierenden Mycelien handelt — annehmen dürfen, daß bei diesen Arten, wenn nicht bei allen, eine wiederholte Aecidienbildung stattfindet. Ferner weisen die Teleutosporen aller dieser Arten nur geringe Unterschiede ihrer Gestalt auf, alle haben glatte Membranen mit deutlich ausgeprägter Scheitelverdickung und dauerhafte Stiele von mäßiger, für die einzelnen Arten etwas verschiedener Länge. Dazu kommt noch, daß bei allen diesen Arten Mesosporen (einzellige Teleutosporen) zahlreich vorhanden sind, während sie den von auswärts eingeführten Arten auf Kompositen fehlen. Man könnte daran denken, daß das Fehlen der Uredo als eine durch klimatische Einflüsse bedingte Eigentümlichkeit anzusehen sei. Dies ist aber nicht der Fall, denn unter den übrigen endemischen Arten von *Puccinia* und *Uromyces* sind viele, denen diese Sporenform nicht fehlt; außerdem finden die oben erwähnten eingeführten Arten, die sämtlich Uredo bilden, die für ihre ungekürzte Entwicklung erforderlichen Existenzbedingungen verwirklicht. Es kann sonach nicht zweifelhaft sein, daß jene Gleichförmigkeit ein Ausdruck der nahen Verwandtschaft ist, welche alle diese Arten untereinander verbindet. Es hat sich sonach, soweit dies bis jetzt beurteilt werden kann, auf den Kompositen in Australien nur ein einziger Typus von Puccinien reichlicher entwickelt, und dies bedeutet gegenüber der großen Mannigfaltigkeit der Typen in den Ländern der nördlichen Hemisphäre eine auffallende Armut der australischen Flora.

Es verdient als eine auch vom Verfasser selbst (p. 49) hervorgehobene Eigentümlichkeit dieser Artengruppe erwähnt zu werden, daß sie anscheinend leicht auf andere Kompositen übergehen. *Puccinia calendulae*, *Pucc. cinerariae* und *Pucc. distincta* sind überhaupt nur auf Pflanzen gefunden worden, die von auswärts eingeführt sind, während von *Pucc. tasmanica* nur die Aecidien auf einheimischen *Senecio*-Arten beobachtet wurden, die Aecidien und Teleutosporen aber auf der kosmopolitischen *Senecio vulgaris*.

Die Armut der australischen Uredineenflora macht sich ferner darin bemerkbar und ist teilweise dadurch bedingt, daß auf artenreichen Phanerogamenfamilien Rostpilze so gut wie völlig fehlen. Die Kompositen nehmen hinsichtlich der Artenzahl die vierte Stelle in der Flora Australiens ein. An erster Stelle stehen die Leguminosen, auf denen bisher 21 verschiedene Uredineen, darunter 17 endemische, gefunden worden sind. An zweiter und dritter Stelle stehen die Myrtaceen und Proteaceen; auf ersteren ist bisher keine Uredinee, auf letzteren nur eine einzige Uredo-Form in Australien gefunden worden.

Die Zahl der von Mc Alpine aufgeführten Arten beträgt 161, das sind kaum mehr, als sich bei uns im Bereich einer Lokalflora mit hinreichend mannigfaltigen Vegetationsverhältnissen finden. Zum Vergleich sei auch erwähnt, daß Ed. Fischer aus der Schweiz (Die Uredineen der Schweiz) nicht weniger als 376 Species aufführt. Nun ist zwar zu bedenken, daß die Erforschung der australischen Uredineenflora eine noch ziemlich unvollständige und lückenhafte ist; aber so viel läßt sich schon jetzt erkennen, daß das Verhältnis zwischen der Zahl dieser Parasiten und derjenigen der Phanerogamen auch bei weiterer Erforschung für Australien ein niedrigeres bleiben wird als in anderen Erdteilen.

Auch hinsichtlich der vertretenen Gattungen erweist sich die Flora Australiens als arm. Die Melampsoraceen sind nur vertreten durch zwei Arten von *Melampsora* eine Art von *Cronartium* und zwei *Caeoma*-Formen. Von den ersteren ist eine, *Melampsora lini* (Pers.) Tul., sicher eingeführt, die andere, *Mel. hypericorum* (DC.) Schröt., hat ihre hauptsächlichste Verbreitung auf der nördlichen Hemisphäre und ist also nur als ein äußerster Ausläufer der Gattung zu betrachten, die fast ganz der nördlichen Halbkugel angehört. Dasselbe gilt von der einen *Caeoma*-Form, dem *Caeoma clematidis* Thüm. Es ist dies die Uredo-Form eines *Coleosporium*, die bisher nur vom Kaplande bekannt war und die mit der Uredo von *Coleosporium clematidis* Barcl. nicht ganz übereinstimmt. Eine durchaus endemische Erscheinung ist dagegen *Cronartium Jacksoniae* Mc Alp. auf verschiedenen Leguminosen. Dieses bildet nur Spermogonien und Teleuto-sporen und erinnert dadurch an gewisse südamerikanische Arten derselben Gattung.

Nicht so dürftig wie mit den Melampsoraceen ist es mit den Pucciniaceen bestellt, aber auch hier sind, wenn wir von den Aecidien und Uredo-Formen von noch unbekannter Zugehörigkeit absehen, nur die folgenden vier Gattungen mit den dabei bemerkten Artenzahlen bisher festgestellt: *Uromyces* 27, *Uromycladium* 7, *Puccinia* 90, *Phragmidium* 4.

Mit Rücksicht auf das Vorhandensein vieler *Acacia*-Arten in Australien muß zunächst das anscheinend völlige Fehlen der Gattung *Ravenelia* auffallen, da zahlreiche Vertreter dieser Gattung sonst allenthalben in tropischen und subtropischen Gebieten gefunden worden sind. Sie ist vertreten durch die Gattung *Uromycladium*, die einzige, die in Australien zu einer bemerkenswerten selbständigen Entwicklung gelangt ist.

Von den vier Phragmidien ist *Phragmidium subcorticium* (Schrnk.) Wint. mit Rosen eingeführt worden, das *Rubus*-bewohnende *Phragmidium longissimum* Thüm. hat in Afrika eine weite Verbreitung und *Phragmidium Barnardi* Plowr. et Wint. kommt in

einer etwas abweichenden Varietät auch in Japan vor und gehört einem Typus an, der in Japan eine ziemlich reiche Entwicklung erfahren hat. Von der vierten Art endlich auf *Acaena sanguisorba* und *A. ovina* sind nur Uredosporen gefunden worden, nach denen sie als *Phragmidium potentillae* (Pers.) Karst. bestimmt worden ist. Es weisen also diese wenigen Arten, durch welche die Gattung *Phragmidium* in Australien eine spärliche Vertretung gefunden hat, auf einen recht verschiedenen Ursprung hin.

Die Hauptmasse der australischen Uredineen stellen die Gattungen *Uromyces* (27 Arten, davon 6 mit Kultur- oder Unkrautpflanzen eingeführt) und *Puccinia* (90 Species, wovon 22 eingeschleppt, 52 endemisch und 16 auch in anderen Ländern gefunden). Es ist bemerkenswert, daß diese beiden Gattungen hier weniger scharf als anderwärts voneinander geschieden sind. Dies äußert sich einerseits in dem Vorkommen einzelner zweizelliger Teleutosporen bei verschiedenen *Uromyces*-Arten (*U. vesiculosus* Wint., *U. limosellae* Ludw., *U. politus* (Berk.) McAlp., *U. orchidearum* Cke et Mass., *U. tricorynes* McAlp.), andererseits in der reichlichen Bildung einzelliger Teleutosporen bei vielen Puccinien. Die Zahl der endemischen Arten von *Puccinia*, für welche keine Mesosporen angegeben werden, ist sehr gering (nur 8 Species), bei mehr als der Hälfte der Arten sind sie zahlreich vorhanden, bei anderen in mäßiger Anzahl. Das Merkwürdigste ist aber, daß auch viele von den eingeschleppten Arten eine reichliche Mesosporenbildung aufweisen, von denen sie außerhalb Australiens nicht bekannt ist, wie z. B. *Puccinia graminis* Pers., *Pucc. festucae* Plowr., *Pucc. perplexans* Plowr. und andere grasbewohnende Arten. Es dürfte zur Zeit nicht möglich sein, eine Erklärung für diese eigentümliche Tatsache zu finden.

Corrigendum.

In der Arbeit von Franz Fuhrmann, Der feinere Bau der Saccharomycetenzelle in No. 20/21 des Centralbl. f. Bakt. II. Abt. p. 638 Zeile 34 soll es nicht „Methylenblau Violettfärbung“, sondern „Methylenblau hervorgehende Violettfärbung“ heißen.

Inhalt.

- | | |
|---|--|
| <p>Dietel, P., Einige Bemerkungen über die Rostpilzflora Australiens, p. 733.</p> <p>Fuhrmann, Franz, Der feinere Bau der Saccharomycetenzelle. (Schluß), p. 697.</p> <p>Gruber, Th., Die beweglichen und unbeweglichen aëroben Gärungserreger in der Milch. (Schluß), p. 711.</p> <p>Heinze, Berthold, Einige Beiträge zur mikrobiologischen Bodenkunde. (Schluß), p. 703.</p> | <p>Kaserer, Hermann, Die Oxydation des Wasserstoffes durch Mikroorganismen, p. 681.</p> <p>Reitz, Adolf, Weitere bakteriologische Untersuchungen mit der Stuttgarter Markt- und Handelsbutter, p. 719.</p> <p>Swellengrebel, N. H., Zur Kenntnis der Cytologie von <i>Bacillus maximus buccalis</i> (Miller). (Schluß), p. 673.</p> <p style="text-align: right;">Corrigendum, p. 736.</p> |
|---|--|

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XVI. No. 24.

Referate.

Sullivan, Synthetic culture media and the biochemistry of bacterial pigments. (Journ. of med. Res. Vol. XIV. 1905. p. 109—160.)

Verf. ist der Ansicht, daß mit der bei bakteriologischen, spezifisch biochemischen Untersuchungen zu erstrebenden höchsten Genauigkeit die Verwendung ihrer Konstitution nach wenig bekannter Stoffe, wie Pepton oder gar Fleischinfus in den Nährböden nicht zu vereinbaren sei. Er stellt sich daher die Aufgabe, durch Anwendung einfacher, gut gekannter Verbindungen Nährböden zu schaffen, die diesen Fehler nicht aufzuweisen haben, und auf dieser Grundlage die Bedingungen der Pigmentbildung und die Natur dieser Stoffe zu erforschen. Als Versuchsorganismen dienen eine Anzahl allgemein bekannter Bakterien, wie *Bac. pyocyaneus*, *prodigiosus* u. a.

Die Versuche ergaben, daß es in der Tat möglich ist, Pepton und Fleischinfus zu eliminieren. Für manche Zwecke läßt sich auch der ebenfalls oft verunreinigte Agar vorteilhaft durch kolloidale Kieselsäure ersetzen. Ueberhaupt lassen sich durch Anpassung die Mikroorganismen an allereinfachste Nährböden gewöhnen. Als Nährsubstrat für den Laboratoriumsgebrauch schlägt Verf. folgendes vor:

| | | |
|--------------------|------|-------|
| Asparagin | 1,00 | Proz. |
| Magnesiumsulfat | 0,02 | " |
| Kaliummonophosphat | 0,10 | " |
| Ammoniumlaktat | 0,05 | " |
| Kochsalz | 0,50 | " |
| Kalisalpeter | 0,02 | " |
| Glycerin | 1,00 | " |
| Agar | 2,00 | " |

Für die einzelnen Bakterienpigmente ergeben sich aus den Untersuchungen folgende Schlüsse:

Die Bildung von Pyocyanin ist unabhängig von der Anwesenheit von Phosphat oder Sulfat, sowie der von Kali und Magnesia, doch vermögen namentlich Magnesiumsulfat und Kaliummonophosphat die Produktion davon wesentlich zu steigern. Die Bildung von Fluoreszenzpigment ist dagegen an Gegenwart von Schwefel und Phosphor gebunden. Die Base ist dabei gleichgültig. Pyocyanin und fluoreszierendes Pigment stehen in engem Zusammenhange, indem, je nach dem Medium, in dem sie wächst, ein und dieselbe Varietät von *Bac. pyocyaneus* veranlaßt werden kann, Pyocyanin allein, Pyocyanin und fluoreszierendes Pigment oder nur das letztere zu bilden.

Reine Fluoreszenzbakterien können nicht zur Bildung von Pyocyanin veranlaßt werden, und umgekehrt nur Pyocyanin bildende nicht zur Fluoreszenz. Diese wird befördert durch hohen Gehalt des Nährbodens an Phosphaten und leicht alkalische Reaktion, die Pyocyaninbildung durch geringen Phosphatgehalt und leicht saure Reaktion.

Die Bildung roter Pigmente (*B. prodigiosus* etc.) und violetter Pigmente (*B. violaceus*) ist abhängig von der Anwesenheit von Magne-

siumsulfat eines Phosphotes, speziell Kaliphosphat. Das rote Pigment von *M. roseus* und *M. mycoides roseus*, sowie das schwarze Pigment des *B. cyaneo-fluorescens* werden nur in Gegenwart von Milchsäure gebildet.

Gelbe Pigmente (*B. fuscus* z. B.) verlangen zu ihrer kräftigen Bildung Pepton und Salze. Ueber die Rolle der letzteren läßt sich bei der unbekanntem Zusammensetzung des Peptons nur soviel sagen, daß auch hier Magnesiumsulfat und Dikaliumphosphat günstig wirken.

Die organischen Ammoniumverbindungen verhalten sich sehr verschieden. Verf. ist der Ansicht, daß gutes Wachstum und Farbstoffbildung mit Anwesenheit der Gruppen: C—O—O—H und C=H₂ zusammenhängen.

Die Salze, welche die Farbstoffproduktion begünstigen, sind direkte Nährsalze der Bakterien oder dienen doch zur Neutralisation schädlicher Säuren, die im Stoffwechsel entstehen. Außer günstiger Temperatur ist zur Pigmentbildung noch freier Sauerstoff erforderlich. Ein Nutzen der Pigmentbildung für die dazu befähigten Organismen ist nicht erkennbar, auch steht diese in keinem Zusammenhang mit der Bildung der für das Leben wichtigen Stoffwechselprodukte.

Vageler (Königsberg i. Pr.)

Löhns, F., Einführung in die Bakteriologie. Für Landwirte verfaßt. Leipzig (Hugo Voigt) 1906. Preis M. 2,50.

Bei der in weiten Kreisen herrschenden Unklarheit über die Bedeutung der Bakteriologie ist trotz der bereits ziemlich zahlreich vorhandenen allgemeinverständlichen Literatur über diesen Gegenstand ein Buch, das wie die vorliegende „Einführung in die Bakteriologie“ eine objektiv-kritische Darstellung der Haupttatsachen bietet, mit Freude zu begrüßen.

Richtige Würdigung der Bedeutung der Bakterien, die sich von Unter- und Ueberschätzung gleich weit entfernt hält, verlangt Verf. schon in der Einleitung, Ein allgemeiner Teil behandelt kurz und präzise die Gestalt, den inneren Bau und die Entwicklung der Bakterien. Größe, Bewegungsorgane, chemische Zusammensetzung, Koloniebildung, Dauerformen werden besprochen und dabei namentlich auch auf die aus der Vielgestaltigkeit der Bakterien resultierende Unsicherheit der üblichen Systeme hingewiesen.

Kapitel 2 behandelt Vorkommen und Lebensbedingungen der Bakterien, und daran anschließend Kapitel 3 in großen Zügen die Methoden der Züchtung und Vernichtung, Sterilisation, Pasteurisieren, Antisepsis und Asepsis.

Bei den Leistungen der Bakterien (Kapitel 4) ist zunächst ganz allgemein zu beachten, daß in Mischkulturen das Verhalten ein ganz anderes sein kann, als in Reinkulturen und außerdem die Breite der Variabilität. Die Begriffe der Virulenz und Immunität werden erläutert, Bildung von Farbe und Licht und die Grundzüge der Gärung, Verwesung und Fäulnis kritisch beleuchtet.

Der spezielle Teil behandelt zuerst die krankheitsregenden Bakterien, und zwar in erster Linie die Erreger der wichtigsten menschlichen Krankheiten: Tuberkulose, Diphtherie, Typhus, Cholera, Pest, Lungenentzündung und Influenza. Des weiteren werden kurz die wichtigsten Infektionskrankheiten der Haustiere behandelt Tuberkulose, Milzbrand, Rauschbrand, Lungenseuche etc. Es folgt die Besprechung der Bakterien als Schädiger der Kulturgewächse, und ihre teils nützliche,

teils schädliche Tätigkeit bei Bereitung und Konservierung der wichtigsten Futtermittel.

Der Rolle der Bakterien in Milch und Molkereiprodukten ist der dritte Abschnitt des speziellen Teiles gewidmet. Der Rest des Buches beschäftigt sich mit der Tätigkeit der Bakterien im Stalldünger und im Boden, wobei natürlich die Frage der Stickstoffumsetzungen den breitesten Raum einnimmt. „Nur lange fortgesetzte Prüfungen der Laboratoriumsergebnisse unter den Verhältnissen der Praxis können für die Landwirtschaft wertvolle Resultate zeitigen“. Ein Mahnwort, das um so mehr zu beherzigen ist, als es kaum ein Arbeitsgebiet geben dürfte, auf welchem Fehlschlüsse einerseits so leicht und andererseits so schwerwiegend sind, wie in der Bodenbakteriologie. Die Denitrifikation ist besonders eingehend behandelt, „damit die praktischen Landwirte nicht von neuem wegen der Denitrifikationsgefahr beunruhigt werden“.

Ob Verf. die im Schluß kurz gestreifte Beteiligung der Bakterien an den Umsetzungen der mineralischen Bestandteile der Ackererde nicht etwas zu niedrig einschätzt, muß die Zukunft lehren.

Vageler (Königsberg i. Pr.).

Stoklasa, Julius, Jelínek, Joh. und Ernest, Ad., Treten Stickstoffverluste im Boden ein bei Düngung mit Chilisalpeter? (Zeitschr. für Zuckerindustrie in Böhmen. 30. Jahrg. 1906. p. 223.)

Da in letzterer Zeit zahlreiche Forscher die Vermutung ausgesprochen haben, daß im Boden Stickstoffverluste infolge Reduktion der Nitrate und Nitrite in elementarem Stickstoff durch die Einwirkung denitrifizierender Bakterien eintreten können, so ist diese Erscheinung auch für den Zuckerrübenbau, wo die reichliche Verwendung von Chilisalpeter beinahe die Regel ist, von großem Interesse und Wichtigkeit. Eine Reihe von Forschern, welche auf die Möglichkeit denitrifizierender Prozesse hingewiesen haben, benützten zum Nachweise denitrifizierender Bakterien die allgemein angewandte Giltay-Abersonsche Nährlösung, deren sich auch die Verfasser bedienten und in allen untersuchten böhmischen Rübenböden folgende Species von nitrifizierenden Bakterien feststellen konnten: *Bact. Hartlebi*, *Bact. fluorescens liquefaciens*, *Bact. pyocyaneum*, *Bact. Stutzeri*, *Bact. filefaciens*, *Bact. centropunctatum*, *Bact. nitrovorum* und *Bact. denitrificans*. Nachdem nun die genannten Rübenböden eine beträchtliche Menge von Denitrifikations-Bakterien enthalten, so drängt sich von selbst die Frage auf, ob diese Bakterien Stickstoffverluste im Ackerboden, namentlich bei reichlicherer Anwendung von Chilisalpeter, wie dies viele Forscher annehmen, bewirken können. Zur Beantwortung der Frage haben die Verfasser eine Anzahl von Versuchen durchgeführt, bezüglich welcher auf die Abhandlung verwiesen werden muß, und deren Resultate zu folgenden Schlußsätzen berechtigen: Die in den untersuchten Rübenböden enthaltenen organischen Substanzen sind keine vorteilhaften Kohlenstoffquellen für die Respirationsprozesse der Denitrifikationsmikroben und infolgedessen werden die Nitrate in diesen Böden nicht in solcher Intensität zu elementarem Stickstoff reduziert, um dies analytisch nachweisen zu können. Bei starkem Luftzutritt, wie ein solcher bei ordentlicher mechanischer Bearbeitung des Bodens stattfindet, können Verluste an elementarem Stickstoff durch Denitrifikationsprozesse nicht entstehen, wohl aber aus den Nitraten sich immer Nitrite bilden.

Stift (Wien).

47*

Maquenne, L. et Roux, Ueber den Einfluß der Reaktion auf die Wirkung der Diastase und die Zusammensetzung der verzuckerten Stärkekleister. (Compt. rend. 1906. p. 124.)

Ueber den Einfluß der Reaktion der Verzuckerungsflüssigkeit auf die Tätigkeit der Diastase herrscht bis jetzt in der Wissenschaft noch große Unklarheit, weil die meisten Forscher, die sich mit dieser Frage beschäftigt haben, als Indikator Phenolphthalein benutzten, ein für die vorliegenden Verhältnisse viel zu empfindliches Reagens, da es nicht gestattet, die wenig reaktionsfähigen schwachen Säuren von den starken zu scheiden. Verff. haben mit Helianthin als Indikator interessante Resultate erzielt, denen auch praktisch große Bedeutung zukommen dürfte.

Die Verzuckerung vollzieht sich nur in (gegen Helianthin) alkalischer Flüssigkeit, womit das Gemisch von Malzauszug und Stärkekleister gemeint ist. Das Optimum der Verzuckerung erzielt man, wenn man den Stärkekleister gegen Helianthin neutralisiert und zum Malzauszug noch $\frac{1}{3}$ bis $\frac{2}{5}$ derjenigen Säuremenge hinzufügt, die zu seiner völligen Absättigung genügen würde. Nach dieser Vorschrift gelang es Verff. sogar 2-proz. Reiskleister in weniger als 1 Stunde zu verzuckern, wozu andernfalls mehrere Tage gehört hätten. Die Schwefelsäure kann dabei ohne weiteres durch Salzsäure ersetzt werden, nicht aber durch Essigsäure, deren Reaktion gegen Helianthin nicht scharf genug ist.

Die Verwendung derartig „aktivierter“ Malzauszüge hat noch den weiteren Vorteil, daß die Menge des gebildeten Zuckers durchschnittlich 10—15 Proz. (der Trocken- resp. gelösten Stärke) höher ist als bei Verwendung normaler Diastase. Verff. erklären sich dies Verhalten dadurch, daß die Stärke entweder mehr Amylose enthält, als man bisher annahm, oder aber daß die sie begleitenden Substanzen (Amylopektin u. a.) durch erhöhte Wirksamkeit der Diastase gleichfalls in Maltose übergeführt werden können.

Die Resultate lassen eine gründliche Revision der üblichen Stärkebestimmungsmethoden als höchst wünschenswert erscheinen. Ferner erscheint die Annahme der Existenz mehrerer Amylosen gestützt.

Vageler (Königsberg i. Pr.).

Lindner, P., Einiges über den Weinbukettschimmel (*Sachisia suaveolens*). (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. 1906. p. 55.)

Der vom Verfasser vor 17 oder 18 Jahren auf Maischespritzern, die von den Bottichen an die mit Teeranstrich versehenen Gärkellerwände geflogen waren, entdeckte obige Pilz wurde in Bezug auf sein Verhalten anfangs wenig studiert. Erst im Jahre 1896 nahm Verfasser die gärungserregende Eigenschaft wahr und konstatierte, daß obiger Pilz die Kulturhefen in Bezug auf den Endvergärungsgrad weit überflügelte, indem er mit den Dextrin vergärenden Hefen *Schizosaccharomyces Pombe* und *octosporus* in einer Reihe marschierte und nur von der Logoshefe übertroffen wurde. Verfasser hebt weiter kurz die von ihm im Jahre 1900 veröffentlichten Gärversuche im hohlen Objektträger mit verschiedenen Zuckerarten hervor, um dann die verschiedenen Versuche zu beschreiben, welche die eminenten gärungserregenden Eigenschaften des Pilzes charakterisieren. Zum Schluß wird hervorgehoben, daß der Pilz auch industriell zu verwerten gesucht worden ist, da Mirsch und Eberhard mit der von Verfassers Laboratorium bezogenen Kultur ein alkoholfreies Getränk hergestellt haben (D. R. P. No. 149432, Klasse 6c), indem sie Aepfelsaft damit anstellten und

10 Tage bei 15—20° C stehen lassen, bis die Pilzdecke und der Anfang einer Gärung sich zeigte. Nachher wurde filtriert und mit Kohlensäure imprägniert. Das Getränk soll sehr angenehm schmecken und nach Moselwein riechen. Es wird auch der Aepfelsaft mit Würze zusammen angestellt und durch gleichzeitige Impfung der Flüssigkeit mit dem Brenneimilchsäureferment *Bacillus Delbrücki* ein mehr säuerlicher Charakter erzielt. (Stift (Wien).)

Rodella, Ueber die Klassifizierung der Bakterienflora der Milch mit besonderer Berücksichtigung der säurelab-bildenden Bakterien. (Milchwirtschaftliches Centralblatt. 1906. Heft 1.)

Bezüglich der Bakterienklassifizierung vertritt Verf. die Ansicht, daß besonders wichtig jene Arbeiten sind, welche die gemeinsamen Eigentümlichkeiten großer Bakteriengruppen zusammenfassen und so einen kurzen und doch vollständigen Ueberblick erleichtern. Im Verfolg dieser Ansicht wird die zwischen Gorini und Freudenreich bestehende Meinungsverschiedenheit bezüglich der säurelabbildenden Bakterien behandelt und zum Schluß die Ansicht aufgestellt, daß, wenn der *Bacillus acidificans presamigenes casei* eine sporenbildende, gut charakterisierte, von den gewöhnlichen peptonisierenden Bacillen oder den *Tyrotrix* verschiedene Bacillenart darzustellen hat, notwendigerweise bewiesen werden muß, daß

- 1) er in hervorragender Weise Milchzucker zu vergären im stande ist,
 - 2) die in den Milchkulturen dieses *Bacillus* entwickelte Säure auf die fragliche Gärung und nicht auf eine solche des Kaseins zurückzuführen ist.
- Ehrenberg (Breslau).

Seligmann, E., Ueber die Reduktasen der Kuhmilch. (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankheiten. Bd. LII. Heft 2.)

Rohe Milch hat reduzierende Eigenschaften; sie vermag z. B. Methylenblau zu entfärben oder Schardingers Reagens, eine formalinhaltige Methylenblaulösung, zu reduzieren. Die reduzierenden Körper, Reduktasen genannt, verhalten sich wie Fermente; sie werden daher in der Literatur meist auch als Fermente betrachtet, mitunter aber auch als Bakterien angesprochen. In neuerer Zeit hat man (Smidt, Hygien. Rundschau 1904. No. 23) unterschieden zwischen Bakterienreduktion in Milch (schwach alkoholischer Methylenblaulösung gegenüber) und Enzymreduktionen (gegenüber Schardingers Reagens); man hat auch versucht, die enzymatische Reduktase mit dem Wasserstoffsuperoxyd zersetzenden Fermente der Milch zu identifizieren. Alle diese Punkte mußten erledigt werden, wenn man zu neuen Anschauungen über die Herkunft und das Wesen der Reduktasen in der Milch kommen wollte.

Der erste Teil der Arbeit beweist, daß Superoxydase (Katalase) und Reduktase zwei durchaus von einander trennbare Fermente sind. Als Beweismittel werden Versuche mit Antiseptics angeführt und die Tatsache, daß Rahm, der sehr stark katalysiert und reduziert, nur die Superoxydase an Wasser oder Kochsalzlösung abgibt, nicht aber die Reduktase.

Im zweite Teile wird nachgewiesen, daß prinzipielle Unterschiede zwischen der Reduktion von Schardingers Reagens und der von schwach alkoholischer Methylenblaulösung nicht bestehen, daß vielmehr beide Re-

duktionsformen durchaus parallel verlaufen, unter normalen wie unter künstlichen Bedingungen. Ein Unterschied in den auslösenden Ursachen kann daher nicht bestehen.

Der dritte Teil der Arbeit weist Bakterien als Ursache der Reduktionswirkung nach. Es gelingt nämlich, Milch, die durch Erhitzen ihre Reduktionskraft verloren hat, durch Einimpfen frischer, roher Milch wieder reduktionsfähig zu machen. Es gelang ferner, Stäbchenbakterien zu isolieren, die schon in physiologischer Kochsalzlösung stark reduzierende Eigenschaften auslösen.

Außer den Bakterien kommen aber für die reduzierenden Eigenschaften der Kuhmilch noch Abbauprodukte des Kaseins in Betracht, wie sie experimentell durch bakterielle Prozesse erhalten wurden. Auch nicht reduzierende Bakterien können solche Körper erzeugen. Der Beweis für Entstehung und Wirksamkeit solcher Körper ruht in der angewandten Methodik (s. d.). Da diese Körper allem Anschein nach analog Fermenten wirken, genügen möglicherweise schon sehr geringe Mengen zur Erzeugung reduzierender Wirkungen. Es ist denkbar, daß solche Produkte schon in den Milchgängen des Muttertieres entstehen, gleichgültig, ob auf bakterieller oder auf rein autolytischer Basis, und so zur Annahme des Vorhandenseins präformierter Enzyme geführt haben.

Seligmann (Berlin).

Gorini, C., Sulla flora bacteria del formaggio di Grana. (Atti della R. Accad. dei Lincei. 1905. No. 8.)

Die Ansichten über die Reifung des Käses sind sehr geteilt. Gorini teilt sie in drei Theorien, nämlich:

1) die Theorie von **Adamez-Wien**, nach dem die Reifungserreger die sogenannten **Tyrothrixbacillen Duclaux'** wären, die im stande sind, das Kasein zu peptonisieren, d. h. zu lösen, nach vorhergegangener, durch ein Labferment bewirkter Koagulation;

2) die Theorie **Freudenreichs-Bern**, nach dem die Reifungserreger die sogenannten **Milchbakterien**, oder mit anderen Worten **Milchfermente** wären, die die Milch durch Versäuerung zur Gerinnung bringen, ohne sie zu peptonisieren;

3) die Theorie **Weigmanns-Kiel**, nach dem schließlich die Reifungserreger verschiedenen Bakterienarten angehörten, unter denen sich auch anaerobe Bakterien und Butterfermente finden.

Verf. hat während 3 Jahren Studien über die Zubereitung des Granakäses angestellt und kommt auf Grund desselben zu folgenden Schlüssen:

Wie sich schon aus der direkten mikroskopischen Prüfung des Granakäses ergab, sind die Bakterien in der Käsemasse ungleichmäßig verteilt. Auf diese Weise kommt es also vor, daß bei Anfertigung von Kulturen mit den verschiedenen Stückchen ein und desselben Käselaibs zuweilen, was die Art der vorhandenen Bakterien anbetrifft, selbst große Verschiedenheiten festgestellt werden.

Die diffusesten und am meisten vertretenen Bakterienarten jedoch gehören zu den 2 Gruppen von Milchbakterien, die, nach der vom Verf. in einer anderen Arbeit vorgeschlagenen Einteilung, sich wie nachstehend angeben lassen: a) Fermente der Laktose, die die Milch säuern, ohne sie zu peptonisieren, b) Fermente der Laktose und des Kaseins, die die Milch säuern und peptonisieren.

Ohne somit in den zu Anfang beklagten Absolutismus verfallen zu

wollen, d. h. ohne a priori die anderen Bakterienarten ausschließen zu wollen, die relativ selten und spärlich in dem Granakäse angetroffen werden, kommt Verf. zu dem Endergebnis, daß die normale Bakterienflora des Granakäses vorzugsweise 2 Arten Fermente umfaßte, nämlich die eigentlichen Milchfermente und die säuernden peptonisierenden Präesamen.

In der ersten Bakteriengruppe finden sich einige Kokken, einige Coccusbacillen und einige Bacillen, in der zweiten Gruppe hauptsächlich 2 Typen von Kokken.

Verf. behält sich vor, diese Arten noch näher zu beschreiben.

Bertarelli (Turin).

Stadlinger und Poda, Rotfleckige Butter. (Milchwirtschaftliches Centralblatt. 1906. Heft 3.)

Die Verff. berichten über die ihnen zum zweitenmale vorgekommene Erscheinung der rotfleckigen Butter. Während Weigmann und Grüber (Milchwirtschaftliches Centralblatt. 1906. Heft 1) in der bisher einzigen in der Literatur vorhandenen Untersuchung der Erscheinung als Ursache Rosahefe feststellen konnten, ermittelten die Verff. ein dem *Bacterium prodigiosum* in mancher Beziehung ähnliches Bakterium als Veranlasser; dasselbe, *Bacterium butyri rubrum*, soll, ohne aber mit einem der bisherigen Vertreter der *Prodigosus*-Gruppe identifiziert zu werden, in diese Einreihung finden. Auf eine eingehende, unter Vergleich mit *Bacterium prodigiosum* durchgeführte Prüfung des morphologischen und kulturellen Verhaltens sei hiermit verwiesen.

Der Farbstoff des neuen Bakteriums dürfte mit dem „Prodiginin“ der Bakterien *prodigiosum*, *kiliense*, *r. indicum*, *miniacum* identisch sein. Er ist in Wasser absolut unlöslich, seine Farbtonung wird auf sauren Medien violettrot, auf alkalischen orangerot sein.

Die Entstehung der roten Flecke in der Butter wird auf das Vorhandensein größerer Buttermilchtröpfchen in der Butter zurückgeführt. Das Bakterium selbst dürfte einer Wasserinfektion sein Erscheinen verdanken.

Ehrenberg (Breslau).

Rossi, C., La tossicità dei Sorghi come foraggio fresco. (Annali di Botanica, Vol. I. 1904. p. 335—344.)

Frische Mohrhirse (*Sorghum vulgare*, *saccharatum cafer*) ist für Meerschweinchen, Ziegen und Ochsen ungiftig. In vergorenem Zustande verliert sie jeden Nährwert für Meerschweinchen, bleibt aber für Ziegen und die mit ihrer Milch ernährten Kinder unschädlich. Die wässerigen und alkoholischen Extrakte enthalten keine cyanbildenden Glukoside, wie neuerdings Dunstan und Henry für ein *Sorghum vulgare* aus Aegypten angaben.

Pantanelli (Rom).

Schröter, A., Ueber Protoplasmaströmung bei Mucorineen. (Flora. Bd. XCV. [Ergänzungsband.] 1905. p. 1—30. Mit 9 Fig.)

Nach Ternetz ist die Protoplasmaströmung in den Hyphen von *Ascophanus carneus* durch lokale Wasserzufuhr bzw. durch lokalen Wasserverlust bedingt. Verf. stellte sich die Frage, ob diese Ursachen auch bei anderen Pilzen, deren Hyphen Plasmaströmung zeigen, maßgebend seien und untersuchte zu diesem Zweck *Mucor stolonifer* und *Phycomyces nitens*. Geprüft wurde, welchen Einfluß Licht, Temperatur, Verletzungen, Schwankungen in der Partiärpressung

des Sauerstoffs, osmotische, chemische und Transspirationsreize auf die Plasmaströmung haben. Verf. faßt die Resultate seiner Untersuchungen selbst folgendermaßen zusammen:

1) Die Plasmaströmung von *Mucor stolonifer* und *Phycomyces nitens* beruht auf osmotischen und Transspirationswirkungen.

2) Bei Homogenität des Nährsubstrats, also submers oder im dampfgesättigten Raum unterbleibt die Strömung, tritt aber ein bei Konzentrationsdifferenzen oder Transpirationstätigkeit; trockene Luft ruft lebhaftere Strömung hervor infolge stärkerer Transpiration. Bei sehr beschleunigter Strömung schrumpfen einzelne Hyphen zusammen, während andere platzen.

3) Wenn die Strömung durch Zusatz osmotisch wirksamer Stoffe hervorgerufen wurde, so erfolgte immer Zuströmen nach der Stelle, wo der Zusatz erfolgt war (wie bei *Ascophanus* nach Ternet z).

4) Die Plasmaströmung bei den genannten Pilzen ist weder als Rotation noch als Zirkulation zu bezeichnen; sie ist vielmehr ein Hin- und Herfluten des ganzen Protoplasmas (ähnlich derjenigen von *Myxomycetenplasmodien*).

5) Das Licht, welches sonst wenig Einfluß auf die Bewegungen des Plasmas hat, kann bei *Mucor stolonifer* und *Phycomyces* nach vorhergehender Verdunkelung Strömung veranlassen bezw. beschleunigen.

6) Temperaturschwankungen haben den gleichen Einfluß auf die Strömung wie bei anderen Pflanzen.

7) Jede Art der Verletzung hat plötzliches Ausfließen von Plasma an der Wunde zur Folge, wonach die Strömung für längere Zeit oder ganz zum Stillstand kommt.

8) Die Strömung findet noch bei geringer Sauerstoffpressung statt. Der Sauerstoff ist daher am Zustandekommen der Strömung wahrscheinlich nur wenig beteiligt.
Neger (Tharandt).

v. Höhnel, Franz, Mykologische Fragmente. (Annales mycologici. Vol. III. 1905. No. 4. p. 323—339.)

LXXVII. *Exidiopsis cystidiophora* n. sp. Auf stark vermorschtem Tannenholz im Wiener Walde. Der Pilz hat Cystiden und auch gerade Sporen, wodurch er von *Exidiopsis cerina* verschieden ist. LXXVIII. *Stypinella hypochnoides* n. sp. Verwandt mit *St. orthobasidion* aus Brasilien. Gefunden auf faulem Rotbuchenholze im Wiener Walde. LXXIX. Ueber einige Corticieen. *Xerocarpus polygonoides* Karsten 1881 ist *Corticium roseum*. In Sammlungen ist letztgenannter Pilz oft falsch determiniert worden. *Hypochnus muscorum* Schröter ist *Kneiffia tomentella* Bres. und muß *Peniophora muscorum* (Schröter) v. Höhnel heißen. — *Peniophora longispora* (Pat.), in Tunis entdeckt, kommt auch in Russisch-Polen und bei Wien vor. LXXX. Ueber *Actinonema Rubi* Fuckel. Diese Pflanze muß *Asterella Rubi* (Fuck.) v. Höhnel heißen, wie die genaue Untersuchung eines guten Materials aus N.-Oesterreich ergab. Die Diagnose wird verbessert und korrigiert. Dazu eine *Forma rhoina* v. Höhn. auf noch grünen Zweigen von *Rhus Cotinus* vom Wiener Wald. LXXXI. *Asterella olivacea* n. sp. auf noch grünen Blättern von *Buxus sempervirens* auf Corsica. LXXXII. *Sphaeroderma microsporum* n. sp. auf morschem Holze von *Fagus silvatica* im Wiener Walde. Der Pilz ist ursprünglich blutrot

und färbt auch das Holz so. LXXXIII. *Acanthostigmella* n. g. mit der Art *A. genuflexa* n. sp. auf morschen Halmen von *Phragmites communis* an der Donau bei Tulln. Das neue Genus unterscheidet sich von *Acanthostigma* und *Chaetomastia* durch die subhyalinen Sporen und die kahlen, nur um die Mündung einen Borstenkranz tragenden Perithezien. LXXXIV. *Calosphaeria polyblasta* Rom. et Sacc. ist eine *Cesatiella*. Der Pilz muß *Ces. polyblasta* (Rom. et Sacc.) v. Höhn. heißen und wächst auf *Salix* im Wiener Walde. CXXXV. *Dothidella Buxi* n. sp. Auf noch grünen Blättern von *Buxus sempervirens* auf Corsica LXXXVI. *Didymascia*, eine neue Ostropeen-Gattung. Mit folgenden Arten: *D. salicicola* (All.) v. H. und *D. lignicola* n. sp. (auf *Carpinus Betulus*-Holz im Wiener Walde). Die Gattung bildet einen Uebergang von den Discomyceten zu den Pyrenomyceten. LXXXVII. Ueber *Patellea pseudosanguinea* Rehm. *Tapesia atosanguinea* Fuckel = *Phialea atosanguinea* (Fuckel) v. Höhn. 1902 = *Patellea pseudosanguinea* Rehm. Bei den Discomyceten ist die Sporenform oft eine sehr wechselnde, so daß bei Aufstellung neuer Arten darauf stets Rücksicht zu nehmen ist. LXXXVIII. *Hendersonia Alyssi* n. sp. (auf dünnen Stengeln von *Alyssum corsicum* bei Bastia, Corsica). LXXXIX. Ueber *Septoria* und *Conithyrium* auf *Helleborus*. Auf den Blättern der europäischen *Helleborus*-Arten gibt es nur ein *Coniothyrium*, das als *Con. Hellebori* C. et M. zu bezeichnen ist. Wohl kommt aber eine echte *Septoria* in Europa auf *Helleborus* vor und zwar auf Corsica und Süddalmatien bisher gefunden; Verf. nennt sie *Sept. helleborina*. XC. Ueber die Blattfleckenkrankheit der *Robinia*. Ursache: *Phleospora Robiniae* (Desm.) v. Höhn.; der Pilz kommt in der Literatur unter den verschiedensten Namen vor (z. B. *Ascochyta Robiniae* Lib., *Septoria Robiniae* Desmaz., *Fusarium Vogelii* Henn. 1902). Die Verbreitung des Pilzes wird angegeben. XCI. Ueber *Melanconicum sphaerospermum* (P.) Link. Genaue Beschreibung und Nachweis, daß *Coniosporium Arundinis* dasselbe ist. XCII. *Thyrsidina* n. g. *Melancon. hyalodictiae* mit der neuen Art. *Th. carneo-miniata* (auf Zweigen von *Acer Pseudoplatanus* bei Wien). XCIII. *Fusicladium heterosporum* n. sp. (auf lebenden Blättern von *Epilobium parviflorum* bei Wien). Der Pilz nimmt eine Zwischenstellung zwischen den Formgattungen *Fusicladium*, *Scolecotrichum* und *Cercospora* ein. XCIV. *Cercospora Scorzoneræ* n. sp. (auf Blättern von *Scorzonera*) *humilis* bei Wien). XCV. *Helicosporium Phragmitis* n. sp. auf faulenden Halmen von *Phragmites communis* bei Wien in Gesellschaft von *Acanthostigmella genuflexa* n. g. et n. sp., das vielleicht auch dazu gehört. XCVI. *Dendrodochium aeruginosum* n. sp. (auf morschem *Fagus*-Holze bei Wien). XCVII. Ueber *Exosporium Ononidis* Auerwald, ist eine *Cercospora* und muß *Cercospora Ononidis* (Awd.) v. Höhn. heißen. Es wird eine genaue Diagnose gegeben. Matouschek (Reichenberg).

v. Höhnel, Franz, Mykologische Fragmente. (Annales mycologici. Vol. III. 1905. No. 5. p. 402—409. Mit 4 Textabbildungen.)

[Fortsetzung des in No. 4, p. 323 ff. erschienenen letzten Teiles.]

XCVIII. Ueber *Exobasidium Schinzianum* P. Magn. Der Pilz ist nur die Sporidiengeneration des *Entyloma Chrysoplenii*,

wie auch Herbarexemplare dartun. Wahrscheinlich gehören auch andere Exobasidium- und Microstoma-Arten zu Entyloma. Da Ent. Chrysoplenii auf Saxifraga rotundifolia keine Entyloma-Sporen bildet, sich also nicht als Ustilaginee verrät, so dürfte überhaupt zwischen den Exobasidieen und Ustilagineen eine nähere Beziehung herrschen. XCIX. Arthroderma Curreyi Berk., C. Massaria galeata n. sp., CI. Unguicularia n. gen. mit U. unguiculata n. sp., CII. Ueber einige Lachnea-Arten, behandeln Ascomyceten. CIII. Ueber Ascochyta Aquilegiae (Rabenh.) v. H. Bildet auf Aquilegia vulgaris große schwärzliche Flecken und scheint nicht selten zu sein; die zahlreichen Synonyma werden angegeben. CIV. Haplobasidium pavoninum v. H. n. sp. Erzeugt auf lebenden Blättern von Aquilegia vulgaris sehr schöne, fast pfauenaugenartige Flecke; zwar nahestehend der einzigen bisher bekannten Haplobasidium-Art (H. Thalictri Eriks.), aber durch die auffallende Fleckenbildung sehr gut gekennzeichnet. CV. Didymaria graminella n. sp. Auf Blättern von Brachypodium sylvaticum in N.-Oesterreich braune linienförmige Flecken bildend. Die nächsten Verwandten dieses Pilzes sind die auf Gräsern vorkommenden Piricularia Arten; die Sporen sind aber zweizellig. Fusoma biseptatum Sacc. und F. triseptatum Sacc. (beide auf Calamagrostis) scheinen identisch zu sein; Ramularia acris Lindb. ist nur eine Form von Didymaria didyma (Ung.) Schröt. (Fortsetzungen folgen).

Matouschek (Reichenberg).

Blackmann, V. H. und Fraser, Miss H. C. J., Fertilization in Sphaerotheca. (Annals of Botany. Vol. XIX. 1905. p. 567—569, mit 1 Fig.)

Die Mitteilung bringt eine Bestätigung der Beobachtungsergebnisse Harpers über die Befruchtung bei Sphaerotheca Humuli, welche bekanntlich von Dangeard bestritten und von verschiedenen anderen Mykologen in Zweifel gezogen worden waren. Die Beobachtungen der Verf. decken sich vollkommen mit denjenigen Harpers.

Neger (Tarandt).

Dietel, P., Ueber die Arten der Gattung Phragmidium. I und II. (Hedwigia. Vol. XLIV. 1905. p. 112—132 u. 330—346. Mit 2 Textfiguren und 1 Tafel.)

Resultate einer kritischen Sichtung eines großen Materials. 1) Gegenwärtig kennt man 46 Arten von Phragmidium und mehrere Formen, denen vielleicht auch das Artenrecht zukommen könnte. Neu werden vom Verfasser beschrieben: Phragmidium Rosae pimpinellifoliae (Rabh.) Diet. (in Mitteleuropa, Sporen 6—8-zellig, gewöhnlich 28—30 μ breit, nur 65—87 μ lang, kastanienbraun), Phr. americanum (Pk.) (besonders auf Rosa blanda in Nordamerika), Phr. Rosae setigerae Diet. auf R. setigera und R. carolina (ebenda), Phr. Rosae californicae Diet. (in Californien), Phr. Rosae arkansanae Diet. (ebenda), Phr. Jonesii Diet. (auf Ivesia Baileyi in Nevada), Phr. Rosae lacerantis Diet. (in Persien), Chr. Rosae moschatae Diet. (in Himalaya), Phr. Rosae multiflorae Diet. (in Japan), Phr. Rubi odorati Diet. (in Nordamerika). 3) Auf Rosen in Deutschland treten außer dem typischen Phr. subcorticium und Phr. tuberculatum J. Müller und der oben zuerst genannten Art auch noch eine Art, die zwar dem Phr. tuberculatum nahe steht, aber von ihm sich durch die konstant größere Zahl von Teleutosporen-

zellen unterscheidet. Doch können nur Kulturversuche hier Klarheit schaffen. *Phr. subcorticium* kommt in Nordamerika nur auf kultivierten Rosen vor, ist also eingeschleppt worden. Die in Nordamerika heimischen Arten gehören anderen, zumeist neuen Arten (die oben erwähnt sind) an. 4) Das in Nordamerika vorkommende *Phr. gracile* (Farl.) Arth. weicht von allen anderen auf *Rubus* lebenden Arten dadurch ab, daß die Uredolager von einer kegelförmigen Peridie umgeben sind. 5) Auf *Potentilla* werden in Nordamerika häufig Formen gefunden, die man gewöhnlich unter dem Namen *Phr. Fragariastris* ausgab; doch gehören alle diese Formen zu *Phr. affine* Syd. Anhangsweise wird noch eine neue *Caeoma*, *C. Rosae gymnocarpae* aus Californien beschrieben. — Im Anhang gibt Verf. eine Uebersicht der Arten, geordnet nach den Wirten (*Rubus*, *Rosa*, *Geum*, *Ivesia*, *Potentilla*, *Fragaria*, *Poterium* und *Sanguisorba*) und deren Verbreitung. Matouschek (Reichenberg).

Hedgecock, George Grant, A disease of cultivated Agaves due to *Colletotrichum*. (Missouri botanical garden, 16. annual report. St. Louis 1905. p. 153—156. Mit 3 Tafeln, Photographieen zeigend.)

In den obengenannten Garten wurden aus ihrem Heimatlande einige Stücke der *Agave Utahensis* verpflanzt und zeigten bald darauf eine Erkrankung, deren Ursache *Colletotrichum Agaves* Cav. war. Dem Pilze fielen auch andere in der Nähe gezogene Arten von Agaven zum Opfer. Der Pilz wird genau beschrieben; auffallend sind die in konzentrischen Ringen recht deutlich angeordneten *Acervuli*. Junge Pflanzen gehen durch den Pilz oft zu Grunde. Bordeauxbrühe war das beste Bekämpfungsmittel. Der Pilz scheint nicht selten die Agaven, und zwar verschiedene Species, zu befallen. Die Bilder zeigen junge, vom Pilze befallene Pflanzen in Töpfen, die *Acervuli*, Konidien und Konidiophoren.

Matouschek (Reichenberg).

Hedgecock, George Grant, A disease of cauliflower and cabbage caused by *Sclerotinia*. (Missouri botanical garden, 16. annual report. St. Louis 1905. p. 179—151. Mit 1 Textabbildung und 3 Tafeln mit Photogrammen.)

In dem obengenannten Garten und in dessen Nachbarschaft zeigte der Blumenkohl und Kopfkohl (cauliflower and cabbage) eine Krankheit, die von *Sclerotinia Libertiana* Fuckel herrührte und in schwarzen Flecken bestand. Sklerotien waren nicht immer vorhanden, und wenn dies der Fall war, so waren sie nur in geringer Zahl zu sehen. Die jungen Partien der Pflanze wurden vom Pilze bevorzugt. Die vom Pilz befallenen Stellen zeigten ein flüssigeres Aussehen, als wenn *Pseudomonas campestris* (Pammel) Smith die Ursache der so ähnlichen Krankheit war; aber sie waren nicht so dunkel gefärbt. Die Apothecien, wie sie namentlich schön in Kulturen zu erlangen waren, werden im Detail und Habitus abgebildet. Matouschek (Reichenberg).

Delacroix, G., Sur une pourriture bactérienne des Choux. (Comptes-Rendus de l'Académie des sciences. Paris. T. CXL. 1905. p. 1356—1358.)

Blumenkohl, Rotkohl und krauser Mailänder Kohl werden seit kurzer Zeit von nekrotischen Veränderungen betroffen, die von livider Färbung und allmählicher Ausstoßung der ergriffenen Gewebe begleitet sind und

schließlich das Herz erreichen und zerstören. Der Verf. zeigt, daß diese Krankheit von den beiden Krankheiten des nordamerikanischen Kohls, welche durch *Pseudomonas campestris* und *Bacillus oleraceae* verursacht werden, durchaus verschieden ist. Auch sie wird durch bewegliche Bakterien hervorgerufen, welche eine schnelle oscillierende Bewegung besitzen, sich langsam fortbewegen und isoliert in den Zellen ihres Wirts leben. Der Verf. hält die Art für neu und nennt sie *Bacillus brassicaevorus*. Es gelang fast immer künstliche Infektionen hervorzurufen, deren Erzeugung durch Verwundungen erleichtert wurde.

Die Behandlung besteht im Ausreißen und in der Vernichtung der erkrankten Stauden. Houard (Paris).

Korff, Auswüchse an Kohlblättern. (Praktische Blätter für Pflanzenbau und Pflanzenschutz. 1906. Heft 1.)

Verf. behandelt die Ascidiabildung an Blättern von *Brassica oleracea* und erwähnt ähnliche Bildungen an der Hand der diesbezüglichen Literatur.

Bei dem an *Brassica oleracea* beobachteten Falle handelte es sich um lokale Auswüchse, die nach fast vollendeter Entwicklung von Blättern an diesen entstanden. Die Erscheinung trat am größten Teile der Blätter einer Kohlpflanze auf, dabei war an der Pflanze, von den Auswüchsen abgesehen, nirgends eine krankhafte Erscheinung bemerkbar, auch keinerlei Anzeichen für Beschädigung durch tierische oder pflanzliche Parasiten vorhanden. Es müssen demnach innere angeerbte Eigenschaften als Entstehungsursache angesehen werden. Ehrenberg (Breslau).

Stift, A., Ueber die im Jahre 1905 beobachteten Schädiger und Krankheiten der Zuckerrübe und einiger anderer landwirtschaftlicher Kulturpflanzen. (Oesterr.-ungarische Zeitschrift für Zuckerindustrie und Landwirtschaft. 1906. p. 28.)

I. Die Zuckerrübe.

A. Tierische Feinde.

1) Engerlinge. Dieselben verursachten stellenweise einen nicht unbeträchtlichen Schaden. 2) Die Drahtwürmer traten besonders stark in Böhmen auf, wo sie zu einer stärkeren Kalamität als im Vorjahre wurden. 3) Die Aaskäfer haben diesmal keinen Anlaß zu Klagen gegeben. 4) Der Moosknopfkäfer machte einen Nachbau nur in Südmähren und in Niederösterreich notwendig. 5) Die Rüsselkäfer sind, wie alle Jahre, am stärksten in Ungarn aufgetreten (Nachbau 15—30 Proz.). Bemerkenswert ist ihr Auftreten in Böhmen in der Gegend von Melnik und Raudnitz, wo sie bisher noch unbekannt waren. Hier gaben die Schädlinge dem Hopfen gegenüber der Zuckerrübe den Vorzug. 6) Die Erdflöhe bieten keinen Anlaß zu besonderen Bemerkungen. 7) Der nebelige Schildkäfer ist im Bezirke Stanislaw in Ostgalizien zum ersten Male auf Zuckerrübenfeldern aufgetreten, wo er einen nicht unbeträchtlichen Schaden verursacht hat. 8) Die Erdraupen haben in Böhmen und Ostungarn ziemlich geschadet und haben auch neue Rübenfelder in Slavonien verwüstet. 9) Die Runkelfliege ist im allgemeinen nur sporadisch aufgetreten. In Nordböhmen trat sie stellenweise zum ersten Male auf und in einem Falle sogar in ungewöhnlicher Massigkeit, nachdem auf manchen Blättern 15—20 Maden

und auf anderen Blättern neben 6—8 Maden ebenso viele Puppen gezählt werden konnten. 10) Die Maden der Kohlschnaken, welche häufig noch mit den Raupen der Wintersaateule (den Erdraupen) verwechselt werden, scheinen auf Rüben eine gewisse Verbreitung zu finden, was darum sehr beachtenswert ist, als sie früher kaum als Rübenschädlinge bekannt waren. 11) Die Maulwurfsgrille, Blattläuse und Tausendfüßer sind, mit Ausnahme der ersten Schädiger, nur lokal und unbedeutend aufgetreten. 12) Die Rübennematoden scheinen besonders in Mähren eine immer größere Verbreitung zu finden und treten daher als neu in manchen Rübenfeldern auf. Bemerkenswert ist, daß die Fangpflanzenmethode an zwei Orten vollständig versagt hat.

B. Krankheiten der Zuckerrübe.

1) Der Wurzelbrand, sowie die Herz- und Trockenfäule bieten keinen Anlaß zu besonderen Bemerkungen. 2) Der Rübenschorf war nicht unhäufig und stand zumeist die Höhe des Zuckergehaltes mit der Entwicklung der Krankheit deutlich im Zusammenhang. Beachtenswert ist ferner, daß in Ungarn auf einem Felde Zuckerrüben nicht gebaut werden können, da nach über 30-jährigen Erfahrungen dieselben immer wieder vom Schorf befallen werden und zwar selbst dann, wenn diese Pflanzen im 6-jährigen Turnus aufeinanderfolgen. 3) Der Gürtelschorf konnte an aus Oberungarn stammenden Rüben eingehend studiert und, übereinstimmend mit früheren Untersuchungen und entgegengesetzt dem Befunde Krügers, Enchyträiden nicht gefunden werden. Daraus ergibt sich, daß sich die Beobachtung von Krüger nicht verallgemeinern läßt und daß der Gürtelschorf daher auch ohne der Tätigkeit der Enchyträiden auftreten kann. Die Ursache des Gürtelschorfes ist noch immer nicht geklärt und erscheinen daher weitere Untersuchungen notwendig. Nach den bisherigen Beobachtungen des Referenten zählt der Gürtelschorf keineswegs zu den gefährlichen Rübenkrankheiten. 4) Die Bakteriose breitet sich in Mähren weiter aus und scheinen trockene Jahre ihr Auftreten zu begünstigen. 5) Der Wurzelötter ist zumeist gutartig aufgetreten und begünstigen viel Grundwasserfeuchtigkeit enthaltende Böden wesentlich die Verbreitung der Krankheit. 6) Der Wurzelkropf war ziemlich häufig zu finden. 7) Das Auftreten der gemeinen Seide (*Cuscuta europaea* L.) wurde wieder auf demselben Felde beobachtet, welches vor 4 Jahren Rüben getragen hatte, die damals sehr stark von der Seide befallen waren. Die Zwischenfrüchte waren Gerste, Wicke und Weizen. Nach den bisherigen Untersuchungen steht fest, daß das Auftreten der Seide wohl im stande ist, die entsprechende Entwicklung der Rüben zu hemmen und bei stärkerem Auftreten einen ganz beachtenswerten Schaden anzurichten, der sich sowohl in einer geringeren Ausbildung des Wurzelkörpers als auch in einer bedeutenderen Verringerung des Zuckergehaltes äußern kann. Die Seide beschränkt sich auch bei der Zuckerrübe nicht auf ihren Ursprungsort, sondern ist im stande, örtlich auseinanderliegende Felder zu verseuchen. Zur radikalen Bekämpfung ist es geboten, die befallenen Rüben (und nicht die Blätter allein) vom Felde zu entfernen. 8) Die unterschiedlich beobachteten Blattkrankheiten waren in ihrem Auftreten ohne Belang. 9) Einflüsse meteorologischer Faktoren. Kaltes Frühjahrswetter begünstigte das Auftreten von Schoßrüben. Im Juli vom Blitz getroffene Rüben zeigten bei der Ernte im Oktober in ihrem oberen Teile wohl gesunde Wurzeln, die aber von der Mitte



ab angefault oder vollständig verfault waren. Die Gewichte schwankten von 63—146 g und die Zuckergehalte von 12,2—17,4 Proz. 10) Unbekannt gebliebene Ursachen. Dieselben betreffen in der Entwicklung zurückgebliebene Rübenpflanzen, ferner abgefressene und eingetrocknete Blätter.

II. Andere landwirtschaftliche Kulturpflanzen.

1) Auftreten der Knöllchennematode (*Heterodera radicola* Müller) auf Erbsenpflanzen. Die dem Absterben nahen oder schon abgestorbenen Pflanzen zeigten einen reichlichen Besatz von Wurzelknöllchen und daneben ziemlich zahlreiche, unregelmäßig geformte, knollige Auswüchse, welche durchweg mit Nematodenlarven und fertig ausgebildeten Weibchen besetzt waren, so daß zweifellos das Auftreten der sogenannten Knöllchennematode vorlag, ein Befund, der darum von Interesse ist, als bisher über das Auftreten dieser Nematode auf Erbsen keinerlei Mitteilungen vorliegen. Ob das Auftreten dieses Schädling an dem Absterben der Erbsenpflanzen einzig und allein die Schuld trug, ließ sich nicht sicher aussprechen, da möglicherweise auch andere Faktoren (Düngungszustand, Bodenverhältnisse etc.) eine Rolle spielen können. 2) Die Fritfliege wurde in der ersten Hälfte des Juni auf nur sehr kümmerlich entwickelten Haferpflanzen gefunden. 3) Die Larven der Rübenblattwespe haben im September Rapskulturen sehr beschädigt, da ein Teil der Blätter beinahe skelettiert war. 4) Der falsche Mehltau auf Weinblättern war in Westungarn, in der Oedenburger Gegend, ziemlich stark aufgetreten. Zur Bekämpfung wurde ein neues Rebenspritzmittel „Antispora“ ohne besonderen Erfolg versucht, was auch sehr natürlich ist, da dieses Mittel nach dem Ergebnis der chemischen Analyse jedenfalls ein mit Destillationsprodukten des Steinkohlenteers getränktes Kaolin ist und in dieser Masse nur die in geringer Menge vorkommenden Destillationsprodukte den einzig wirkenden Bestandteil darstellen. Da Kaolin in Wasser unlöslich ist, so ist die Behauptung der Reklamezettel, daß sich „Antispora“ in kaltem Wasser schnell auflöse, falsch. 5) Von weiteren Schädigern wurden beobachtet: Die Filzkrankheit des Weinstockes, besonders in Weinhecken und Weinlauben (verursacht durch die Tätigkeit der Milbe *Phytoptus Vitis* L.), der Kohlerdfloh massenhaft auf Futterrüben, Kohl- und Salatpflanzen, der Gitterrost der Birnblätter (durch *Gymnosporangium Sabiniae* Wtr.), Blattkrankheit der Stachelbeeren (jedenfalls durch *Aecidium Grossulariae* Schm. verursacht), Blattfleckenkrankheit der Erdbeere (durch *Phyllosticta fragaricola* Desm.) und Gallenbildungen an Fichten (durch die Fichtenrindenlaus, *Chermes abietis*, verursacht).

Autoreferat.

v. Schrenk, Hermann, On the occurrence of *Peronospora parasitica* on cauliflower. (Missouri botanical garden, 16. annual report. St. Louis 1905. p. 121—124. Mit 3 Tafeln.)

In den Wintermonaten 1903 wurden in einem Gewächshause des oben genannten Gartens alle Blumenkohlpflanzen von der auf Kreuzblütlern nicht gerade seltenen *Peronospora parasitica* De Bary befallen. Die auf der Unterseite der Blätter erschienenen weißen Flecken verleihen dem Blatte ein buntes Aussehen. — Die Bekämpfungsmittel werden angeführt.

Matouschek (Reichenberg).

Maublanc, A., I. Sur une maladie des Olives due au *Macrophoma dalmatica* (Thüm.) Berl. et Vogl. II. A propos du *Dasyscypha calyciformis* (Willd.). (Bull. Soc. Myc. de France. T. XX. 1904. p. 229—232. 7 Fig.; p. 232—235. 8 Fig.)

I. Die Oliven in der Umgebung von Sevilla werden von einem Pilz befallen, welchen der Verf. als *Macrophoma dalmatica* anspricht. Die Infektion erfolgt, bevor die Oliven völlig entwickelt sind; sie weisen alsdann einen rundlichen, bräunlichen, leicht eingedrückten Fleck auf. Die Konzeptakeln des Pilzes entstehen in den Geweben und heben die Epidermis empor; die Keimung der Sporen geschieht im Wasser. Trotzdem keine Infektionsversuche gemacht wurden, glaubt der Verf. es mit einem Wundenparasiten zu tun zu haben.

II. Eine Peziza, *Dasyscypha calyciformis*, lebt als Saprophyt auf den Tannen der Dauphiné, und zwar in der vorher durch *Agaricus melleus* getöteten Rinde. Dieser ist der eigentliche Parasit. Es finden sich zwei Arten von Fruktifikationsorganen: die Form mit Asci und eine neue Form mit Spermogonien. Houard (Paris).

Guéguen, F., Les maladies parasitaires de la Vigne (parasites végétaux et parasites animaux). (Biblioth. d'horticult. et de jardinage. Paris. 1904. 198 p. 83 fig.)

Gegenüber den Fortschritten des Weinbaus hat die Widerstandskraft der Rebe abgenommen und die sie angreifenden Parasiten sind zahlreich geworden. Der Verf. gibt eine gedrängte Uebersicht über dieselben und faßt zugleich in einem kleinen Bande die für den fortgeschrittenen Winzer notwendigen, sich sonst nur zerstreut vorfindenden Begriffe zusammen. Der erste Teil (pflanzliche Parasiten) umfaßt die von Bakterien, Pilzen oder als Parasiten lebenden Phanerogamen verursachten Krankheiten. Im zweiten Teile (tierische Parasiten) werden die Hemipteren (*Phylloxera*, *Cochenille*, *Coepophagus*), die Lepidopteren, Orthopteren, Acariden, Würmer etc. besprochen. Bei jeder Krankheit wird das entsprechende Heilmittel angegeben. Zahlreiche Abbildungen erleichtern die Lektüre des ohnehin stets leicht verständlichen Textes. Das kleine Werk ist ein unentbehrliches Hilfsmittel für den Winzer. Houard (Paris).

Istvánffi, Gy de, Sur l'hivernage de l'oidium de la vigne. (Comptes-rendus de l'Académie des sciences. Paris. T. CXXXVIII. 1904. p. 596—597.)

Die Kenntnis der Schlupfwinkel, in denen das *Oidium* überwintert, ist von großer Bedeutung. Der Verf. hat in Ungarn festgestellt, daß das Ueberwintern in den Knospen geschehen kann, aber besonders in den „grapillons“ und dem Rebholz derjenigen Weinstöcke stattfindet, welche im Herbst vom *Oidium* befallen werden. Die verwetterten Fäden des schmarotzenden Myceliums weisen zahlreiche stark entwickelte Saugvorrichtungen auf und enthalten festes, stark strahlenbrechendes Protoplasma. Diese Tatsachen stimmen mit den von Appel 1903 veröffentlichten überein. Die einzuschlagende Winterbehandlung muß also bestehen: 1) im Wegschaffen von befallenem Rebholz und den „grapillons“ unmittelbar nach der Weinlese, und im Behandeln der Weinstöcke mit einer starken Dosis; 2) es muß ein Anstrich kurz vor dem Aufbrechen der Knospen vorgenommen werden. Houard (Paris).

Puttemans, A., Contribution à l'étude de la fumagine des Caféiers. (Bull. Soc. myc. de France. T. XX. 1904. p. 152—155. pl. 10.)

Der Verf. hat die verschiedenen sowohl vollkommenen wie unvollkommenen Formen einer „fumagine“ auf den Blättern junger Kaffeebäume in Brasilien angetroffen. Die unteren Blätter, welche dem Erdboden zunächst waren, waren am meisten befallen; denn sie boten die Feuchtigkeits- und Beschattungsbedingungen, welche der Entwicklung der Krankheit am günstigsten waren. Der Verf. bezeichnet die beiden neuen Arten als *Capnodium brasiliense* und *Limacinia coffeicola*.
Houard (Paris).

Güssow, Ueber eine neue Krankheit an Gurken in England (*Corynespora Mazei*, Güssow gen. et spec. nov.). (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. 1906. Heft 1.)

Verf. berichtet über eine seit 1896 in den englischen Treibgurkenkulturen auftretende sehr gefährliche und großen Schaden bringende Pilzkrankung, die auch leicht nach Deutschland eingeschleppt werden könnte.

Flecke von Nadelkopfgröße, die sich schnell verbreitern, treten nach Beginn der künstlichen Erwärmung der Treibhäuser an den Blättern auf. Der sie verursachende Hyphomycet ist nicht mit *Cercospora* identisch, auch nicht mit *Polydesmus* verwandt. Ueber seine Fruktifikation u. s. w. werden noch nähere Angaben gemacht. Ehrenberg (Breslau).

Sorauer, Erkrankung von *Cereus nyclicalis* Lk. (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. 1906. Heft 1.)

Von Verf. wird eine an *Cereus nyclicalis* durch Wasser- und Nährstoffüberschuß entstandene Art von „inneren Intumescenzen“ geschildert.

Hierbei leitet eine Glykoseanhäufung die dann erfolgende Ueerverlängerung der Zellen ein, die nicht wie bei anderen Intumescenzen in der radialen Richtung allein, sondern sogar häufiger nach verschiedenen Seiten hin erfolgt. So bilden sich braunwandige inhaltsarme Zellnester mitten im grünen Rindengewebe, die dann zusammenfallen. Von derartig kranken, braunen Gewebeerden greift der Vorgang der Verarmung und Ueerverlängerung des Rindenparenchyms nach dem Holzring hin rückwärts und seitlich weiter, bis ein größerer Teil des Stengels in dieser Weise gebräunt oder tintenschwarz geworden ist. Während, wie erwähnt, in den erkrankten Partien Zucker sich anhäuft, verhält sich der Stärkegehalt umgekehrt und ist in den stärkst erkrankten Geweben gleich Null. Der oxalsaure Kalk, ungemein reichlich im Gewebe auftretend, zeigte nicht wie in den gesunden Pflanzenteilen Raphidenform, sondern war als kurze Oktaeder, oder als lange Säulen zu finden.

Heilung war, der oben erwähnten Krankheitsursache entsprechend, durch Wasserverminderung und kühlere, luftige Haltung zu erzielen. Ueber den dabei vor sich gehenden, interessanten Selbstheilungsprozeß sind dann noch eingehende Mitteilungen gemacht.

Ehrenberg (Breslau).

Trotter, A., Intumescenze foliari di *Ipomoea Batatas*. (Annali di Botanica. Vol. I. 1904. p. 362.)

Die Zellen der oberen Blattepidermis von *Hyp. B.* wachsen im feuchten Warmhause zu Intumescenzen aus. Die Hypertrophie trifft oft auch den

Kern. Die Palissadenzellen nehmen ebenfalls das Wachstum wieder auf und reihen sich zwischen die Epidermiszellen ein. Verf. vergleicht dieses Verhalten mit der Lenticellenbildung, welche erblich fixiert wäre, während das Auswachsen einzelner Zellgruppen eine willkürliche Entwicklungsänderung darstellen soll. Pantanelli (Rom).

v. Schrenk, Hermann, Intumescences formed as a result of chemical stimulation. (Missouri botanical garden, 16. annual report. St. Louis 1905. p. 125—148. Mit 7 Tafeln.)

Blumenkohlpflanzen (cauliflowers) entwickeln, wenn sie mit Kupferammonium-Karbonat bespritzt werden, eine Menge von Intumescenzen; ganz ähnliche Intumescenzen entstehen bei Anwendung von schwachen Lösungen von Kupferchlorid, Kupferacetat, Kupfernitrat und -Sulfat, wenn sie auf die Blattoberfläche verspritzt werden; sie zeigen sich stets häufiger auf der Unter- als auf der Oberseite der Blätter und bilden sich unabhängig vom Substrate und Klima. Die Intumescenzen sind das Resultat aktiven Reizes der chemischen Gifte. Das parenchymatische Gewebe im Blatte schwillt an und sprengt die darüber befindliche Zelllage. Die Photographieen zeigen Habitusbilder und auch Durchschnitte durch gesunde und erkrankte (Intumescenzen besitzende) Blätter.

Matouschek (Reichenberg).

v. Tubeuf, Intumescenzenbildung der Baumrinde unter Flechten. (Naturwissenschaftliche Zeitschrift für Land- und Forstwirtschaft. 1906. Heft 1.)

Bei Gelegenheit der Schilderung von Erscheinungen an rauchgeschädigten Weymouthskiefern berichtet Verf., daß unter Flechtenpolstern (*Xanthoria parietina*, *Parmelia*) die sonst glatte, glänzende Rinde mattschwarz erschien, außerdem uneben und durch kleine Beulen aufgetrieben war. In der Mitte der Polster, also an ihren ältesten Teilen, erschienen die Beulen am größten, einzelne auch durch kleine Risse aufgesprungen. Die mikroskopische Untersuchung zeigte, daß sich hier durch Zellvermehrung und Zellvergrößerung ein Wuchergewebe gebildet hatte, welches schließlich zur Zerreißen des Periderms führen konnte.

Als Ursache erschien, da die Flechten an sich nicht in Frage kamen, das von ihren Polstern festgehaltene Wasser, vielleicht auch in ihm gelöste schweflige Säure des als anderweitiger Schädiger erkannten Rauches. Experimentelle Prüfung führte zu dem Ergebnis, daß sich durch feuchte Watte ganz ähnliche Erscheinungen an gesunden Zweigen hervorrufen ließen, womit also der Beweis erbracht ist, daß die von den Flechtenpolstern lange festgehaltene Feuchtigkeit ohne Mitwirkung schwefliger Säure die Rindenbuckel hervorzurufen vermag. Verf. nimmt hierbei an, daß der Reiz der Feuchtigkeit zur Veranlassung der Intumescenzen genügt, ohne daß Vorhandensein der von Sorauer für Intumescenzenbildung geforderten Bedingungen dabei notwendig wäre.

Ehrenberg (Breslau).

Reh, L., Die Rolle der Zoologie in der Phytopathologie. (Zeitschr. f. wissenschaftliche Insektenbiologie. Bd. I. [1. Folge. Bd. X.] 1905. Heft 7. p. 299—307. Husum 1905.)

Im Gegensatz zu Freiherrn v. Tubeuf ist Reh der Ansicht, daß nichts dafür spricht, „was eine führende Rolle der Botanik im Pflanzenschutz befürwortete; wir haben aber sehr triftige Gründe ge-

funden dafür, daß die Zoologie von größerer praktischer Bedeutung im Pflanzenschutz ist, als die Botanik“. Zum Beweise, daß wir in Deutschland fast doppelt so viele tierische als pflanzliche Schädiger haben, greift Reh als Stichprobe den 13. Jahresbericht des Sonderausschusses für Pflanzenschutz der D. L.-G. heraus. Für den Phytopathologen ist aber die Hauptsache, daß er den Schädling selbst, seine Biologie, seine Bekämpfung kennt. Die Kenntnis der Pflanze und ihre Physiologie ist gegenüber den meisten tierischen Schädlingen ohne praktische Bedeutung. In jedem Falle die richtigen Bekämpfungsmittel ohne Schädigung der Pflanzen anzuwenden, ist Gegenstand der praktischen Erfahrung sowohl für den Botaniker wie für den Zoologen und in letzter Linie Sache des Praktikers, des Landwirtes oder Gärtners. Sieht man von der Pflanze selbst ab, so bringt man die Wirkung der Bekämpfungsmittel auf die schädigenden Tiere besser vor das Forum der Zoologie als vor das der Botanik. Mit der Kultur der Pflanzen ist von Haus aus der schulgemäß vorgebildete akademische Botaniker nicht mehr vertraut, als der wissenschaftliche Zoologe. Hier sind beide auf das Urteil des ansässigen Landwirtes resp. Gärtners angewiesen. Wenngleich der Botaniker subtile Mißbildungen wilder Pflanzen unbestreitbar leichter wird entdecken können als der Zoologe, so wird die Feststellung solcher Verbildungen, auf die es im Pflanzenschutz meistens ankommt, doch auch dem Zoologen keine Schwierigkeit machen. Am sichersten stellt schließlich der Züchter der Kulturpflanze selbst die Krankheit fest. In demselben Maße, wie es selbstverständlich der Botanik zukommt, zu entscheiden, ob pilzliche Krankheitserreger vorliegen oder nicht, ebenso sollte man die Entscheidung über tierische Schädiger dem Zoologen überlassen. Reh ist der Ansicht, daß ein tierischer Angriff „meist viel schwieriger“ festzustellen ist, als ein pilzlicher. Daß die praktische Bedeutung der tierischen Feinde in der Regel größer ist als die der pflanzlichen, dafür werden Rüben, Kartoffeln, Hülsenfrüchte, Kohl, Obstbäume, Wein, sowie die Forstwirtschaft als Belege herangezogen. Auch beim Getreide glaubt Reh nicht an ein Ueberwiegen des durch Pilze angerichteten Schadens vor dem durch tierische Schädlinge angerichteten. Wenn das Gebiet der Pflanzenpathologie, wie Freiherr v. Tubeuf sagt, die Zoologen zu wenig angezogen hat, so ist das einmal nicht immer der Fall gewesen und, wenn es gegenwärtig zutrifft, so sieht Reh den Grund dafür darin, daß den Zoologen in Deutschland bei pflanzenpathologischen Instituten und Unternehmungen zu wenig freier Spielraum gelassen wird. Er empfiehlt, nicht nur Botanikern, sondern auch Zoologen selbständige und hier und da leitende Stellungen an solchen Instituten zu übergeben, wie sich das im deutschen Forstschutzwesen glänzend bewährt hat; oder besser, man gründe größere Anstalten mit einem Landwirt an der Spitze und mit selbständigen gleichberechtigten zoologischen und botanischen Abteilungen.

Ref. kann sich den von L. Reh hier aufgestellten Behauptungen im wesentlichen nur anschließen und möchte als Beispiel auf ein deutsch-koloniales Institut hinweisen, das noch junge Biologisch-Landwirtschaftliche Institut in Amani, wo Zoologe und Botaniker koordiniert arbeiten, und wo der Direktor von Haus aus Zoologe ist.

Th. Kuhlitz (Berlin).

Fuchs, Etwas über *Pissodes harcyniae* Hbst. (Naturwissenschaftliche Zeitschrift für Land- und Forstwirtschaft. 1905. Heft 12.)

Verf. teilt über seine Erfahrungen mit dem Harzrüsselkäfer mit, daß

er wie Gerlach (Naturwissenschaftliche Zeitschrift für Land- und Forstwirtschaft, 1898, p. 137) beobachten konnte, daß lebenskräftige Fichten die Larven des Rüsselkäfers durch Harz erstickten, worauf der Gang dann von einer Korkschicht umgeben wurde. Erst nach Zerstörung von Fichten durch Pilzwuchs gelang es dem Harzrüsselkäfer, erfolgreiche Bruten anzulegen.
Ehrenberg (Breslau).

Eckstein, Zur genauen Kenntnis des *Pissodes validirostris* Gyll. gleich *strobili* Redtb. (Zeitschrift für Forst- und Jagdwesen. 1906. Heft 2.)

Verf. bespricht in Anlehnung an eine Arbeit von Torka die Unterschiede zwischen *Pissodes notatus* Fabr. und *validirostris* Gyll. Es sind bei *P. validirostris* u. a.:

1) die Hinterecken des Halsschildes zwar scharf rechtwinklig, aber niemals so spitz und ausgezogen wie bei *notatus*.

2) Das Halsschild von *validirostris* ist nicht wie bei *notatus* sehr tief ausgehöhlt.

3) Der Rüssel von *validirostris* ist schwarz, höchstens unter den Augen braun, der von *notatus* dunkelbraun, nur im unteren Drittel geschwärzt.

Auch über die Entwicklung von *P. validirostris* finden sich Angaben.
Ehrenberg (Breslau).

Endlich, R., Die Einschleppungsgefahr des Baumwollrüsselkäfers. (Tropenpflanzer. Jahrg. VIII. No. 12. p. 655—666.)

Diese Arbeit über den *Anthonomus grandis*, einen der schlimmsten, wenn nicht den schlimmsten der amerikanischen Baumwollschädlinge, ist in erster Linie an die für den aufblühenden Baumwollbau unserer Kolonien interessierten Kreise als Warnung gerichtet. Für den Zoologen und Phytopathologen bedeutet sie eine sehr willkommene kurze Zusammenfassung dessen, was bisher über seine geographische Verbreitung, seine Entwicklung, sein Verhalten auf der Baumwollstaude, die Art und Weise, wie er sie schädigt, seine natürlichen Feinde bekannt geworden ist, und was man von Bekämpfungsmaßregeln gegen ihn angewandt hat.

Die Käfer überwintern auf dem Erdboden unter vertrockneten Pflanzen, zwischen Unkräutern, in Erdspalten etc. Die Eier werden im Frühjahr teils in die Blütenknospen, teils in die jungen Kapseln abgelegt. Die Larven kriechen nach 14 Tagen aus und zerstören die inneren Teile. Die Knospen fallen ab, resp. die Kapseln verkümmern. Von einem Pärchen können in einer Saison viele Generationen mit weit über 100000 Käfern entstammen. Die ursprüngliche Heimat ist Zentralamerika. Von hier hat er sich mit der Baumwolle über Mexiko und dann über südöstliche Baumwolldistrikte (Texas und Louisiana) der Vereinigten Staaten verbreitet. In den letzten 10 Jahren (bis 1904) soll der Käfer jährlich durchschnittlich um 50 englische Meilen vorgezogen sein. Er akklimatisiert sich leicht. Verf. verweist nun auf die große Gefahr, „die im Falle seiner ungehinderten Verbreitung die ganze Baumwollzone der Erde bedroht“. Auch unsere Kolonien hält er bei dem reichlichen Bezug amerikanischen Saatgutes für gefährdet und empfiehlt daher Kontrolle und gründliche Desinfektion.

Ref. möchte hier auf die Aehnlichkeit hinweisen, die *Anthonomus grandis* hinsichtlich der geographischen Verbreitung mit einer Baum-

wollwanze, dem bekannten „red bug“ oder „cotton stainer“, dem *Dysdercus suturellus* H. Sch., zeigt. Ursprünglich gleich dem *Anthonomus westindisch*, hat sich *D. suturellus* gleich diesem allmählich in die südöstlichen Baumwollländer der Vereinigten Staaten ausgebreitet. Außerhalb dieses Gebietes und Westindiens aber hat man ihn bis heute nicht gesehen. Vielmehr treten in Baumwollländern anderer Erdteile andere ihm systematisch und biologisch nahe verwandte, dort von Haus aus heimische Formen an seine Stelle, obwohl ihm der rege Versand amerikanischer Baumwolle seit lange reichlich Gelegenheit gegeben hätte, sich über dies verhältnismäßig enge Gebiet hinaus, z. B. nach Afrika, auszubreiten. So erscheint es unwahrscheinlich, daß er sich z. B. in unseren afrikanischen Baumwollgebieten akklimatisieren könnte. Wäre ihm die Akklimatisation dort möglich, so wäre sie gewiß längst erfolgt. Das scheint auch für *Anthonomus grandis* zuzutreffen. Man wird sich da keine Sorgen zu machen brauchen.

Der Schaden, den *Anthonomus grandis* im Jahre 1903 in Texas anrichtete, soll nicht weniger als 15 000 000 Doll. betragen haben. Die verschiedenen Baumwollsorten zeigen ihm gegenüber verschiedene Widerstandsfähigkeit. So ist Upland widerstandsfähiger als Sea Island, Mitafifi etc. *Gossypium wightianum* Tod., die Kidney cotton von Kuba, hält Schwarz für die ursprüngliche Nährpflanze. Verschont bleibt nur *Gossypium arboreum*. — Natürliche Feinde sind besonders Ameisen, dann die Spinne *Pediculoides ventricosus* J. Ac., auch Spaltpilze. — Von den ausführlich besprochenen Bekämpfungsmaßregeln, die man vorgeschlagen oder mit verschiedenem Erfolg angewandt hat, erwähnen wir hier nur die folgenden: Schutz der Felder durch Baumwoll- und Drahtnetze; Sammeln der Käfer mit Schüttelapparaten; Fangen der überwinterten Käfer; Behandlung der Pflanzen mit Wasserdampf; Besprengen mit Kontaktgiften; Verbrennen der befallenen Felder, Besprengen mit Rohpetroleum und Umpflügen; zeitweiliges Unterwasser setzen der Felder, was aber natürlich nur in wenigen Gebieten möglich.

Th. Kuhlitz (Berlin).

Vosseler, J., Einige Feinde der Baumwollkulturen in Deutsch-Ostafrika. (Mitteilungen aus dem Biologisch-Landwirtschaftlichen Institut Amani. No. 18 vom 26. März 1904. [24.] Usambara-Post 1904.) 4 pp. 4^o.

Es wird auf die vielfach beobachtete Fähigkeit der Insekten zur Umgewöhnung hingewiesen. Einheimische Insekten, die sich bisher mit wildwachsenden Pflanzen begnügten, gewöhnen sich vielfach an schmackhaftere Kulturpflanzen. Ob zu den einheimischen Baumwollfeinden noch fremde eingeschleppt werden, bleibt abzuwarten.

1) Eine, in Deutsch-Ostafrika offenbar weit verbreitete, *Gelechia*-Raupe (Motte). Wahrscheinlicher Lebensgang: Die Motte legt ihre Eier einzeln oder zu 2 oder 3 an die grüne Kapsel. Die ausgeschlüpfte Raupe bohrt sich in das Innere der Kapsel, dringt durch die Wolle bis zu den reifenden Samen vor, bohrt sie an und frißt sie aus. Später verläßt sie zur Verpuppung die Kapsel wieder. -- Raupen, wahrscheinlich einer zweiten Generation, in reifen geöffneten Kapseln leben ausschließlich von dem ölhaltigen Kerne der Samen. Verpuppung in einem Gespinst teils im Kern, teils zwischen der Wolle. Art des Schadens: Die reife Wolle wird minderwertig, weil stellenweise zusammengesponnen und von den Exkrementen beschmutzt und verklebt. Durch die von der

Raupe gebohrte Ausgangsöffnung dringt Feuchtigkeit in die grüne Kapsel und hat die Entwicklung von Schleimpilzen und Verflüssigung und Verjauchung der in der Kapsel abgesetzten Exkremente zur Folge. Bekämpfung: Erkennung der Raupe in den geöffneten Kapseln an den die Faser durchsetzenden Exkrementen. Aussetzen der infizierten Wolle während 1—2 Stunden einer Hitze von 60—70° C oder der Einwirkung von Kohlensäure, Kohlenoxyd, Schwefelkohlenstoffdämpfen. Einfangen der Motten mit Fanglampen bei Nacht. Kurze Beschreibung einer zum nächtlichen Lichtfang eventuell geeigneten Lampe. Ködern der Motten mit Häufchen von Bananenschalen, Zuckerrohrresten, leicht angegoener Melasse mit nachfolgendem Uebergießen mit heißem Wasser.

2) *Dysdercus*, Rotwanze, *D. fasciatus* Sign., *superstitiosus* F. Vielfach an wildwachsenden Malvaceen, stechen die unreifen Kapseln an und saugen den Samen aus. Der Wanzenstich erzeugt Gelbwerden der Wolle. Frühes Abfallen oder Verkümmern der Kapseln. Nach Oeffnung der reifen Früchte Anstechen der reifen Samen und Beschmutzen der Wolle durch die Exkremente. *Oxycarenus*¹⁾. „Kleine graue Baumwollwanze“, meist in größerer Anzahl in den reifen Früchten, vielleicht mitschuldig an dem Gelbwerden der Wolle. Bekämpfung: Die *Dysdercus*-Larven sollen in der Morgenfrühe abgesammelt werden mit Hilfe eines untergehaltenen, von zwei Seiten die Staude umfassenden halbierten Tuchrahmens, auf den die Tiere fallen. Abklopfen von dem Rahmen in einen mit Wasser und darauf schwimmender Petroleumschicht gefüllten Trog. Ködern der Wanzen durch süßgärende Stoffe und Fruchtabfälle.

3) Wanderheuschrecken haben sowohl als ungeflügelte Larven wie auch als geflügelte Schwärme besondere Vorliebe für die Baumwollstauden.

4) Tierische Schädlinge der Wurzeln und des Wurzelhalses. Käferlarven, vielleicht u. a. auch eine kleine Raupe.

Th. Kuhlitz (Berlin).

Vosseler, J., Weitere Beobachtungen über Baumwollschädlinge in Deutsch-Ostafrika. (Mitteilungen aus dem Biologisch-Landwirtschaftlichen Institut Amani. No. 30 vom 12. November 1904. [30]. Usambara-Post 1904.) 3 pp.

Beobachtungen während einer Reise durch die Baumwollgebiete bis Kilwa südlich.

1) Kapselwurm, *Gelechia*, überall, aber durchweg nur spärlich. Reichlich und schädlich auf 2-jährigen Stauden einer Eingeborenenpflanzung bei Ssamanga. (Vergl. das vorhergehende Referat.)

2) Die Rotwanze, *Dysdercus*, überall in Menge, auch auf wilden Pflanzen und Gras in den Pflanzungen. Eier groß, gelb, zu 60—80 in flachen Kuchen auf der Unterseite der Blätter. Ratschläge für die Bekämpfung (vergl. das vorhergehende und folgende Referat).

3) Baumwoll-Blattroller. Neu beobachtet: Raupe eines Kleinschmetterlinges (Pyralide?). Eiablage an der Blattunterseite. Die Räumchen nagen zunächst an den Seiteneinbuchtungen der Blätter. Später schneidet jede Raupe für sich ein Blatt 2—3 cm von der Blattbasis entfernt ein, rollt den größeren oberen Blattteil vom Rande her

1) *Oxycarenus hyalinipennis* A. Costa. Er ist von den Mittelmeerländern bis nach Südafrika verbreitet und wird im indischen Gebiet von dem *Oxycarenus lugubris* auf der Baumwolle vertreten (Ref.).

ein, fixiert ihn mit Spinnfäden in der Rollenform und frißt das Blattgrün, von der Spitze her beginnend. Die Blätter werden braun und dürr. Hemmung des Stoffwechsels, Substanzverlust. In Indien und Aegypten ein ähnlicher, vielleicht identischer Schädling. Bekämpfung: Zerdrücken der eingerollten Blätter. Beobachtet wurden in den Rollen auch Eier eines Ichneumoniden, eines natürlichen Feindes der Raupen.

4) Weinschwärmer, *Chaerocampa celerto* L. Die Raupe fraß in Mombo im Mai die Baumwolle kahl. Ablesen der Raupen.

5) Spinnerraupe, Saturnide. Die Raupe vernichtete in Dar-es-Salam drei Baumwollpflanzungen mit ca. 4 ha. Schmetterling noch unbekannt.

6) Stengelspitzenbohrer. Kleine Raupe. Schmetterling noch unbekannt. Sie bohrt die zarten Zweigenden und Haupttriebe an. Welken der Triebspitzen. Geht offenbar von Unkraut, auf dem sie nur Blätter zu fressen schien, auf die Baumwolle über. In Indien ein ähnlicher Schädling. Außerdem vier andere Schmetterlingsraupen. Darunter ein großer „Kapselwurm“, d. i. eine Eulerraupe von ähnlichen Gewohnheiten wie der amerikanische „Boll-Worm“. Durchbohrt wie *Gelechia* die Kapseln. (Vergl. das vorhergehende Referat.)

7) Stammringler. Vermutlich ein Rüsselkäfer. Am Stamm der Pflanze ist etwa 10—20 cm über dem Boden Rinde und Splint ringsum zerbissen und zerbohrt. 3—5 Grübchen im Holzteil, hier mitunter ein Ei. Schon ein Windstoß knickt die Pflanze an dieser Stelle ab. Bekämpfung: Verbrennen der geknickten Pflanzen.

8) Blattkäfer und Rüsselkäfer. Etwa 10 Arten Blattkäfer und 3 Arten Rüsselkäfer.

9) Woll- und Schildläuse verursachen kaum ernstliche Schädigungen. Wollläuse in Bagamoyo, Mombo, Ssamanga. Schildläuse fast überall, in Mohorro Urheber einer Art „Mafutakrankheit“.

10) Blattläuse, weiter verbreitet, in der üblichen Weise Urheber von Deformationen. Schaden unerheblich.

11) Cikaden. „Die bekannten kleinen grünen Zirpen“, überall an der Unterseite der Blätter. Wahrscheinliche Folgen ihrer Stiche: feine Punktierungen der Blätter. (Vergl. das folgende Referat.)

12) Milben. Häufig kleine blasse Milben auf der Unterseite der Blätter, oft unter eigenem feinen Gespinnst. Gelbliche bis gelbrote Deformationen älterer Blätter und junger Gipfeltriebe. Auf Barbados ähnliche Milben der Gattung *Bryobia* und *Tetranychus*, woselbst erfolgreiche Bekämpfung durch Bestäuben mit Schwefelblumen, auch Bespritzen mit Wasser und Schwefelblumen und dergl.

13) Termiten. Verursachen selten Beschädigungen an jungen Pflänzchen. Bekämpfung: Auslegen von Gift am besten schon vor Anlage der Pflanzung. Eingießen von Schwefelkohlenstoff in die Nester, wässrige Petroleum-Emulsion etc.

14) Tausendfüße. Kleinere Arten verursachen manchmal durch Anagen bei Nacht Abwelken von Sämlingen und älteren Pflanzen. Schaden meist unbedeutend. Riesentausendfüße (bis 20 cm) wurden als Vertilger der wegen Pilzerkrankung abgefallenen Blätter als nützlich erkannt. Die Hundertfüße, welche fast nur Ungeziefer vertilgen, sollten geschont werden.

Th. Kuhlitz (Berlin).

Vosseler, J., 1) Die Kräuselkrankheit der Baumwolle. —

2) Der Fang der Rotwanze. (Pflanzer. No. 14.) 8 pp. Tanga (Kommunaldruckerei) 1906.

1) Ein Fall jener Pflanzenerkrankungen, in denen der Schädling erst dann in nennenswerte Tätigkeit tritt, wenn die Pflanze bereits aus anderen Ursachen von ihrer Widerstandskraft eingebüßt hat. Tanga und Saadani in Deutsch-Ostafrika waren besonders von der Krankheit betroffen und eine kleine grüne Cikade als Erreger angegeben. Besichtigung in Tanga. Krankheitsbild: Dürftiger Wuchs der Stauden, Verkrümmung, Randrisse und Verdorrung der Blätter. Stamm, Zweige, Blattstiele ohne absolut gravierende Merkmale. Aber Wurzelfäule infolge übergroßer Feuchtigkeit, schlechte Bewurzelung, vielfach Bräunung der Rinde und des Kambiums des Wurzelhalses. Schwacher Wurzelstock. Etwa 2—4 cm unter der Erdoberfläche Bildung neuer, aber bald infolge eintretender Trockenheit verdorrter Wurzeln. Auf diesen kranken Stauden ganze Wolken von Cikaden. An normalen Pflanzen ist kaum etwas von ihren Angriffen zu bemerken. Die leichtfliegenden geschlechtsreifen Cikaden sitzen vorwiegend auf der Unterseite der Blätter, die ungeflügelten Larven klettern behende herum. Diese Cikaden, an der Küste wie im Usambaragebirge überall, auf den verschiedensten Pflanzen, besonders Gräsern, gehen übrigens auch auf andere Kulturgewächse, z. B. *Ricinus*, über. Ursache der Krankheit: „Sicher ist die Kräuselkrankheit und mit ihr ein verstärkter Cikadenbefall auch hier wieder eine Begleit- bzw. Folgeerscheinung mangelhafter Ernährung“. Es wird gefolgert, „daß die Cikaden einen Feind der Baumwolle darstellen, der hauptsächlich, vielleicht ausschließlich in schon zuvor aus irgend welchen Gründen erkrankten Pflanzungen schädlich oder verderblich wird“. Hierfür ist auch folgendes beweisend: Die gesunden Felder sind von den kranken nur durch einen 4 m breiten Weg getrennt; aber trotz der leicht möglichen und sicher in facta fortgesetzt stattfindenden Verschleppung der leicht fliegenden Cikaden durch den Wind über diesen Weg hinüber aus den kranken in die gesunden Felder wurden die Insekten den bisher gesunden Feldern doch nicht verderblich. Es bleiben „an stramm wachsenden Stauden von den Tieren angegriffene Blätter glatt“ und es wurden „wiederholt kräuselkranke Pflanzen ohne nachweisbare Spuren von Insektenstichen beobachtet“. Vosseler hält für sehr wahrscheinlich, „daß, falls die Formveränderung nicht ohnehin eine Folge von Ernährungsstörungen oder Pilzinfektionen ist, entweder der durch Stiche erzeugte Reiz oder die Saftentziehung als deren Ursache anzusehen sind und daß diese Erscheinung bei normalen Pflanzen deshalb nicht oder weniger auftritt, weil sie weniger empfindlich und saftreicher sind“. Bekämpfung: Durch Maßnahmen für ein flottes Wachstum der Pflanze. Passende Auswahl der Bodenart; Berücksichtigung der meteorologischen Verhältnisse; womöglich Düngung; bei Treibung von Seitenwurzeln aus dem Wurzelhals Anhäufeln von Erde, um deren Verdorrung zu verhindern. — Gegen die Cikaden (gleichzeitig auch gegen Blattläuse und Milben) wiederholtes Bestäuben mit Kontaktgiften, „Markasol“ $\frac{1}{6}$ -Lösung; 3-proz. Seifenlösung; sublimiertem Schwefel; subl. Schwefel vermischt mit Kalkpulver.

2) Die Rotwanzen sind im ostafrikanischen Baumwollgebiet allgemein verbreitet und wandern daher immer wieder von außen in die Baumwollpflanzung ein. Sie sind während des ganzen Jahres vorhanden und scheinbar an keine bestimmte Fortpflanzungszeit gebunden. Die Rotwanze sticht schon bei Erscheinen der ersten Blütenknospen der Baumwolle den Stiel oder Blütenboden an, worauf Vergilben und Abfallen erfolgt. Später, bei massenhaftem Auftreten, entwertet sie die reife

Wolle durch bräunliche Verfärbung. Feinde der Rotwanze sind einige, ihr in der Färbung stark ähnelnde Raubwanzen, die beim Aussaugen erwachsener Rotwanzen beobachtet wurden. Die nützlichen Raubwanzen sind aber selten und daher wenig wirksam. Der Fang geschieht durch frühzeitiges Auslegen von Köderfallen in Gestalt von halbierten reifen Früchten des Affenbrotbaumes zwischen die Baumwollreihen auf die Erde. Die Wanzen dringen in Menge in die ihnen Nahrung und Schutz gewährenden Früchte, pflanzen sich wohl auch in ihnen fort. Die Früchte werden dann in regelmäßigen Abständen über mit Wasser und Petroleum gefüllten Gefäßen der Wanzen entledigt, wobei die ungeflügelten Larven der Vernichtung nicht entgehen können. Die gleichzeitige Mitvernichtung vereinzelter nützlicher Raubwanzen ist hierbei allerdings nicht zu vermeiden, kommt aber bei deren Seltenheit kaum in Anschlag. Ref. möchte hierzu noch bemerken: Die Rotwanze rekrutiert sich in Afrika aus mehreren *Dysdercus*-Arten, besonders *D. supersticiosus* F., *cardinalis* Gerst., *fasciatus* Sign., die in ihrer verderblichen Tätigkeit auf der Baumwolle in den australischen, indischen, nord-, mittel- und südamerikanischen Gebieten von anderen Arten ebenderselben Gattung vertreten werden. — Die nützlichen, den *Dysdercus* in der Farbe sehr ähnelnden Raubwanzen Ostafrikas gehören der *Reduviden*-Gattung *Phonoctonus* an, z. B. *Phonoctonus fasciatus* P. B.
Th. Kuhlitz (Berlin).

Vosseler, J., 1) Zwei Baumwollkrankheiten. — 2) Immune Baumwollsorten. (Mitteilungen aus dem Biologisch-Landwirtschaftlichen Institut Amani. No. 32 vom 7. Dezember 1904. [32.] Usambara-Post 1904.) 3 pp. 4°.

1) Stengelbräune in Kilwa (Deutsch-Ostafrika), sowie in Mkondajiu bei Kilwa an ägyptischer und amerikanischer Saat in Eingeborenenpflanzungen. Rindenflecke an den Haupttrieben unterhalb des Gipfels, wo dann die Seitensprossen, oft auch der Hauptsproß, abstarben. Später auch Uebergang der Bräune auf vollsaftige grüne Triebe. Gipfeldürre. Die von den Rindenflecken befallenen Seitenzweige biegen sich unter dem Gewicht der Belaubung horizontal. Schließlich Zweigabschnitte von 10—50 und 60 cm Länge fast schwarz mit dunkel gefärbten Blättern, abgestorbenen und vertrockneten Blüten und Früchten. Vielfach gänzlich Absterben junger Pflanzen. Bisweilen Ausheilung möglich. Die Ursache konnte noch nicht sicher festgestellt werden. Wanzen, die hier besonders in Betracht kommen könnten, waren in diesen Pflanzungen dieselben wie anderswo, auch nicht zahlreicher. Ob die auf den braunen Flecken vorgefundenen Pilze und Bakterien Ursache oder Folge der Krankheit sind, konnte noch nicht festgestellt werden. Vielleicht ist die Stengelbräune eine Reaktion auf den „sauren Boden“ dieser Pflanzungen in Verbindung mit den damaligen reichlicheren Niederschlägen, also auf morastigen Untergrund.

Blattrotflecken-Krankheit. Ueber das ganze Küstengebiet Deutsch-Ostafrikas verbreitet. Sie führt allmählich zu Rotfärbung, vielfach zu Verkrümmung und schließlich Absterben des Blattes. — Blattläuse und Cikaden, die zunächst suspekt erschienen, kommen jedenfalls als Haupterreger nicht in Betracht. Niedere Pilze geben zu keinem Verdacht Anlaß. Da die Krankheit mit Beginn der Trockenzeit wich, da sie an windgeschützten Stellen gar nicht oder kaum auftrat, so kann man vielleicht die Ursache in allzu schnellem Wechsel

zwischen stechendem Sonnenschein und übermäßigem Regenfall, heftigem Wind und Windstille, wie ihn die damalige Regenzeit in außergewöhnlichem Maße zeigte, suchen. Amerikanische, indische und ägyptische Kulturen leiden unter einer ähnlichen, ebenfalls noch nicht erklärten Erkrankung.

2) Von drei, dicht aneinander stoßenden Baumwollfeldern bei Ssamanga (Deutsch-Ostafrika), einem 1-jährigen, einem 3-jährigen und einem 2-jährigen, zeigte sich das 2-jährige, mit einer ägyptischen Saat bestellte Feld, während in den beiden anderen Feldern Krankheit und Ungeziefer herrschte, fast völlig immun und bot Aussicht auf befriedigende Ernte. Vielleicht läßt sich durch weitere Versuche nachweisen, daß der hier gebauten Baumwolle diese günstige Eigenschaft dauernd innewohnt und vielleicht lassen sich diese Vorzüge durch Saatauswahl noch steigern. In Amerika sind im Hinblick auf die erfahrungsmäßige Immunität amerikanischer Rebsorten gegen die Reblaus Versuche mit der Zucht einer gegen organische, klimatische und tierparasitäre Krankheiten immunen Baumwolle gemacht, aber offenbar bisher ohne reellen Erfolg. So wird man vorläufig noch auf den direkten Kampf mit diesen Krankheiten angewiesen sein.

Th. Kuhlitz (Berlin).

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Schnegg, H., Formaldehyd als Desinfektionsmittel für den Brauereibetrieb. (Zeitschrift für das gesamte Brauwesen. Bd. XXVIII. 1905. No. 49 und 50.)

Verf. hat durch eingehende Versuche festgestellt, daß Formaldehyd zur Desinfektion sämtlicher aus den verschiedensten Materialien bestehenden Leitungen in $\frac{1}{2}$ -proz. wässriger Lösung vorzüglich geeignet ist. Die Einwirkungsdauer liegt zwischen 2—24 Stunden und braucht diese Desinfektion nur wöchentlich einmal durchgeführt zu werden. Bei längerem Gebrauch der Formaldehydlösungen sind die Leitungen andauernd in einem organismenarmen Zustande. Die vollkommene Neutralität des Formaldehyds gegen die sämtlichen bei den Leitungen und Gefäßen verwendeten Materialien sowie seine Haltbarkeit und sein geringer Preis lassen ihn als ein sehr schätzenswertes Desinfektionsmittel in der Brauerei erscheinen und der unangenehme Geruch des Aldehyds ist in $\frac{1}{2}$ -proz. Lösungen kaum wahrnehmbar. Kausch (Halensee-Berlin).

Henneberg, W., Zur Kenntnis der Abtötungstemperatur der auf dem Malz lebenden schädlichen Mikroorganismen. (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. 1906. No. 11.)

Verf. hat bei Gelegenheit der biologischen Analysen einer großen Menge von eingesandten Hefe- und Maischeproben aus Hefefabriken und Brennereien, sowie bei seinen zahlreichen Untersuchungen in der Hefezuchtanstalt des Institutes und in der Versuchsbrennerei die Beobachtung gemacht, daß als die Hauptschädlinge der genannten Betriebe nur die sogenannten „wilden Milchsäurebakterien“ heute noch zu gelten haben. In den Hefefabriken, die nach dem Lüftungsverfahren arbeiten, ist außerdem noch die Kahmhefe als Schädling zu nennen. Die früher allgemein als Schädlinge sehr gefürchteten Buttersäurebacillen und Essigbakterien schaden in unseren modernen Be-

trieben nicht oder kaum noch, da sie infolge der vorschriftsmäßig starken Ansäuerung der Würzen und Maischen nicht mehr zur Entwicklung kommen können.

Infektionen sind, wie Verf. zu beobachten reichlich Gelegenheit hatte, in den genannten Betrieben heutzutage noch äußerst häufig. Sie machen sich durch starke Säurezunahme während der Hefegärung und in der Hefefabrik durch das Flockigwerden der Hefe äußerlich bemerkbar. Schlechte Vergärung, geringe Alkoholausbeute, beziehungsweise wenig und schlecht haltbare Hefe sind die Folgen solcher Betriebsstörungen.

Schädliche Milchsäurebakterien kommen in reichlicher Menge auf dem Getreide und dem Malze vor, und die Möglichkeit, daß von hier aus eine Infektion erfolgen kann, mußte im Interesse der Praxis einmal näher untersucht werden. Das Malz wird bekanntlich, um die Stärke zu verzuckern, längere Zeit einer höheren Temperatur, etwa 62° C (50 R), während einer halben Stunde ausgesetzt. Die mitgeteilten Untersuchungen sollten nun zunächst die Frage beantworten, ob die genannten Schädlinge der Einwirkung dieser Verzuckerungstemperatur unterliegen.

In einigen Versuchsreihen im Laboratorium wurde ein stark infiziertes Grünmalz während einer halben Stunde in Wasser auf 62° C erhitzt. Nach dieser Behandlung waren stets sämtliche, nicht Sporen bildende Bakterien sowie alle Hefen abgestorben. Nur Heubacillen und Buttersäurebacillen, also sporenbildende Arten, entwickelten sich in den warmgestellten Proben. Genau dasselbe Ergebnis wurde erzielt, als zu dem Malz ein größerer Zusatz von in Fäulnis übergegangenem Gerstenschrot gemacht worden war.

Es wurde nun in einigen Versuchen festzustellen gesucht, ob die Abtötung der in Betracht kommenden Schädlinge auch schon bei einer geringeren Temperatur möglich ist. Um die Schaumgärung zu bekämpfen, pflegt man in der Brennerei das Malz zum Teil erst nach der Verzuckerung „kalt“ hinzuzugeben. Dieses Malz bringt natürlich eine außerordentlich große Menge von schädlichen Spaltpilzen in die Maische hinein. Hier wäre es von großer Wichtigkeit, wenn man die an dem Malz befindlichen Schädlinge vor dem Zusatz abtöten könnte, ohne daß die Diastase des Malzes erheblich abgeschwächt würde. Verf. erhitzte das Malz auf 55° C während einer Viertelstunde und erreichte dadurch dasselbe, wie in den obengenannten Versuchen. Erwähnt mag sein, daß die Diastase, wie andere gefunden haben, bei dieser Behandlung nicht oder nur sehr wenig abgeschwächt wird. Eine Erhitzung auf 44° C eine Viertelstunde lang hatte dagegen keinen Einfluß.

Die früher vom Verf. durch Versuche festgestellten Abtötungstemperaturen für die in Betracht kommenden Schädlinge stimmen mit den obigen Versuchsergebnissen überein. Die Kahlhefe der Hefefabrik wurde z. B. bei 60° C in 5 und bei 65° C in 1 Minute abgetötet. Die sogenannten „wilden Milchsäurebacillen“ wurden bei 66° C in 1 Minute, der Kulturmilchsäurebacillus (*B. Delbrücki*) bei 65° C in 5 Minuten und bei 72,5° C (in Dickmaische) in 1 Minute abgetötet.

Für die Praxis hat man seit langem viel höhere Abtötungstemperaturen empfohlen, offenbar weil man auch die sporenbildenden Buttersäurebacillen und Heubacillen abtöten oder wenigstens abschwächen zu

müssen glaubte. So soll, um nur 2 Beispiele zu nennen, das Hefengut nach dem Verzuckern 1 Stunde auf 70—75° C und bei schlechtem Malz die Maische nach dem Verzuckern bis auf 67° C erhitzt werden. Dies ist also ganz überflüssig und kann nur durch Abschwächen der Diastase schädlich wirken.

Die Praxis pflegt also höhere Abtötungstemperaturen als nötig sind anzuwenden und verhindert trotzdem nicht, daß die Häufigkeit der Infektionen abnimmt. Das beruht offenbar darauf, daß an den Bottichwandungen oberhalb der Flüssigkeitsgrenze die hochgespritzten Maischeteilchen u. s. w. der Erhitzung nicht ausgesetzt sind. Nach dem Abkühlen fließen diese durch Bewegen der Maische u. s. w. wieder in dieselbe zurück und die hier vorhandenen Spaltpilze infizieren infolge ihrer ungeheueren Vermehrungsgeschwindigkeit die erhitzt gewesene Maische von neuem.

Autoreferat.

Utz, Ueber die Brauchbarkeit der fuchsinschweifigen Säure zum Nachweise von Formalin in der Milch. (Milchwirtschaftliches Centralblatt. 1906. Heft 1.)

Verf. kommt auf Grund seiner Versuche und der dabei gemachten Erfahrungen zu folgenden Schlüssen:

1) Fuchsinschweifige Säure ist als Reagens zum Nachweise von Formaldehyd in der Milch nicht zu empfehlen. Hierzu eignet sich am besten das von Arnold und Mentzel (Chem. Zeit. 1902. p. 246) angegebene Verfahren mittels salzsaurem Phenylhydrazin und Nitroprussidnatrium.

2) Normale Milch verhält sich fuchsinschweifiger Säure gegenüber beim Erwärmen zunächst wie formalinhaltige Milch; doch verschwindet bei ersterer die Rotfärbung beim Erkalten, während sie bei der letzten bestehen bleibt.

Ehrenberg (Breslau).

Müller, Erich, Ein Apparat zum Kochen oder Pasteurisieren von Kindermilch. (Jahrbuch f. Kinderheilkunde. III. F. Bd. XII. Heft 6. p. 825.)

Beschreibung eines neuen Apparates, dessen wesentlicher Vorteil in der schnellen Abkühlung der Milch in demselben Gefäße, in welchem sie sterilisiert ist, und in der leichten Handhabung bestehen soll.

Albert Uffenheimer - München.

Tubeuf, K., Freiherr von, Die Uebernahme der pflanzenschutzlichen Einrichtungen der D. L.-G. auf eine Reichsanstalt. (Naturw. Zeitschr. f. Land- und Forstwirtschaft. Jahrg. 3 1905. p. 24—38 und 76—83. Stuttgart 1905.)

Gemeint ist mit dieser Reichsanstalt, vom Sommer 1905 an, die Biologische Abteilung des Kaiserlichen Gesundheitsamtes, jetzt Biologische Anstalt für Land- und Forstwirtschaft: Verteilung von Hauptsammelstellen über das ganze Reich, welche ihrerseits die Zentralen bilden für Sammelstellen. Den Sammelstellen sollen, weit im Lande verteilt, „Sammler“ zur Seite stehen. Aufgaben dieser Organisation dieselben, wie die der bisherigen entsprechenden Einrichtung der Deutschen Landwirtschafts-Gesellschaft, d. i. Raterteilung und Auskunft an Landwirte bezüglich pflanzlicher und tierischer Schädlinge. Dabei aber stärkere Berücksichtigung der Statistik der Pflanzenkrankheiten als bisher; Einbeziehung auch des forstlichen Pflanzenschutzes. Freiherr v. Tubeuf

warnet vor einer Ueberschätzung der Statistik und bezweifelt die Möglichkeit wirklich zuverlässiger Erhebungen auf diesem Gebiet. Wünschenswert ist vielmehr, daß das Hauptgewicht auf praktisch wichtige Fragen der Biologie gelegt werde. Die Hauptsache sollte sein „die Bestimmung der Pflanzenkrankheit und die Ratgebung für deren Bekämpfung“.

Im Zusammenhange mit weiteren organisatorischen Erwägungen beschäftigt sich Verf. mit dem Wesen der Pflanzenpathologie und weist der Botanik auf diesem Gebiete eine führende Stelle auch der Zoologie gegenüber an. Es sei gleich hier gesagt, daß hiergegen L. Reh vom Standpunkte des Zoologen entschiedenen Widerspruch erhoben hat. Es handelt sich dabei um folgende Sätze. Freiherr v. Tubeuf sagt: „Es kommt dabei in erster Linie in Betracht die Botanik, in zweiter Linie die Zoologie Der Botanik wird immer die führende Rolle zufallen, weil sie uns die normale Pflanze und ihre Physiologie kennen lehrt. Der Botaniker wird also auch stets berufen sein, die Diagnose der Krankheit zu stellen. Er wird auch am meisten mit der Kultur der Pflanzen vertraut sein. . . .“

„Bei den Krankheiten der Pflanzen, welche durch andere Lebewesen verursacht werden, fällt ihm wieder die Mehrzahl zu, es sind dies die Krankheiten, welche durch andere Pflanzen . . verursacht werden. . . . Ja auch bei den durch Tiere verursachten Krankheiten ist es Sache des Botanikers, die Störung auf das Leben der Pflanzen zu untersuchen.“

„Bei manchen solcher durch Tiere verursachten Krankheiten haben sogar die Botaniker auch zum Teil zoologische Studien übernommen, weil das Gebiet die Zoologen zu wenig angezogen hat“. Bei der prinzipiellen Bedeutung dieser Frage für das Verhältnis von Zoologie und Botanik in der Pflanzenpathologie lassen wir anschließend ein Referat folgen zu L. Rehs Aufsatz, der sich im wesentlichen gegen die hier zitierten Sätze richtet.

Th. Kuhlitz (Berlin).

Cantin, G., Sur la destruction de l'œuf d'hiver du Phylloxera par le lysol. (Comptes-Rendus de l'Académie des sciences. Paris. T. CXXXVIII. 1904. p. 178—179.)

Das Winterei der Reblaus spielt eine sehr wichtige Rolle bei der Entwicklung dieses Parasiten, da es unaufhörlich die Lebensfähigkeit der unterirdischen Kolonien unterhält und erneuert.

Durch Behandlung der Pflanzen mit 4—5-proz. Lysollösung ist es dem Verf. gelungen: 1) einen bereits als gänzlich verloren betrachteten Weinberg wieder vollständig herzustellen, welcher ohne diese Behandlung ausgerodet worden wäre, wie dies der Zustand des völlig abgestorbenen Kontrollweinbergs beweist; 2) einen auf französische Art in einem völlig mit Phylloxera durchseuchten Gebiet neu angelegten Weinberg gesund und in schönem Zustande, sowohl was Laub wie Früchte anbelangt, zu erhalten.

Houard (Paris).

Teichert, Beitrag zur Biologie des in Milch gezüchteten *Bacillus typhi murium*. (Milchwirtschaftliches Centralblatt. 1905. Heft 10.)

Gelegentlich der Versandfähigmachung des *Bacillus typhi murium* in Milch nach Pfreimbter und diesbezüglicher Versuche wurde festgestellt, daß

1) der *Bacillus* die Milch durch seine Lebenstätigkeit zwar säuert, aber nie zum Gerinnen bringt,

2) die Virulenz des Bacillus in Milchkulturen eine besonders starke war, und auch nach vierwöchentlicher Aufbewahrung der Kulturen noch erhalten blieb. Allerdings zeigten sich dann schon zahlreiche Involutionsformen, so daß längere Aufbewahrung keinesfalls ratsam erscheinen dürfte.

Ehrenberg (Breslau).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

- v. Drigalski**, Ein Schnellfilter für Agarlösungen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906. Heft 2. p. 298—301. 1 Fig.)
- Hesse, W. und Niedner**, Die quantitative Bestimmung von Bakterien in Flüssigkeiten. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. LIII. 1906. Heft 2. p. 259—281.)
- Meyer, Arthur**, Apparat für die Kultur von Bakterien bei hohen Sauerstoffkonzentrationen, sowie zur Bestimmung der Sauerstoffmaxima der Bakterien species und der Tötungszeiten bei höheren Sauerstoffkonzentrationen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. N. 10/13. p. 386—398. 8 Fig.)
- Prior, Eugen**, Die Reinzüchtung von Mikroorganismen für Gewerbebetriebe. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. XXXIV. 1906. N. 20. p. 221—224; N. 21. p. 233—237.)
- Rajat, H. et Péju, G.**, Variations morphologiques des bacilles dans les milieux salins. (Lyon méd. Année XXXVIII. 1906. N. 19. p. 959—961.)
- Thomas, J. B.**, The action of various chemical substances upon cultures of Amoebae. (Bur. of governm. lab. Bull. N. 32. Manille 1905. p. 17—29.)
- Wolf-Eisner, Alfred**, Ueber einen Käfig mit automatischem Urinabfluß für mittelgroße Laboratoriumstiere. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906. Heft 2. p. 301—303. 3 Fig.)

Systematik, Morphologie.

- Ariola, Vincenzo**, Monostoma filicollae Rudolphi e Distoma okeni Kölliker. (Zool. Anz. Bd. XXX. N. 6. S. 185—186.)
- Benecke, W.**, Ueber Bacillus chitinovorae, einen Chitin zersetzenden Spaltpilz. (Bot. Ztg. Jg. LXIII. Abt. I. Originalabh. 1905. Heft 12. p. 227—242.)
- Bourquin, J.**, Un nouveau Taenia (Davainea) chez les Prosimiens. Note préliminaire. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906. Heft 2. p. 222.)
- Dickel, Otto**, Die Getreidefliegen. 1. u. 2. Stuttgart (Ulmer) 1906. 8°. 4 p. Mit Fig. Flugbl. 5. 6. d. k. Württemb. Anst. f. Pflanzenschutz in Hohenheim. —, 03 M.
- Fuhrmann, O.**, Die Täniiden der Raubvögel. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906. Heft 2. p. 212—221. 32 Fig.)
- Giles, G. M.**, The anatomy of the biting flies of the Genera Stomoxys and Glossina. [Forts.] (Journ. of trop. med. Vol. IX. 1906. N. 10. p. 153—156. 18 Fig.)
- Kirchner, O.**, Die Obstbaumspinnmotten. Stuttgart (Ulmer) 1906. 4 p. Mit Fig. 8°. Flugbl. 7. d. k. Württemb. Anst. in Hohenheim. —, 03 M.
- Lagnesse, E.**, Les „Stäbchendrüsenzellen“ (M. Plehn) sont des Sporozoaires parasites. (Anat. Anz. Bd. XXVIII. 1906. N. 15/16. p. 414—416.)
- Lampa, Sven**, Lökflugan (Anthomyia antiqua Mg.) (Entomol. Tidskrift. Jg. XXVI. 1905. p. 60—63. 1 Taf.)
- Lingard, A.**, A new species of Trypanosoma found in the blood of rats, together with a new metrical method of standardizing the measurements of Trypanosomata. (Journ. of trop. veter. sc. T. I. 1906. p. 5—14. 1 Taf.)
- Lühe**, Die tierischen Parasiten des Elchs. Schriften d. phys.-ökonom. Ges. Königsberg i. P. Jg. XLVI. 1905. ersch. 1906. p. 177—180. 2 Fig.)
- Mesnil, F. et Martin, G.**, Sur la réceptivité des oiseaux aux Trypanosomes pathogènes pour les mammifères. (Compt. rend. Soc. biol. T. LX. 1906. N. 15. p. 739—743.)
- Nicolle, C. et Comte, C.**, Contribution à l'étude des trypanosomes des cheiroptères. (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 15. p. 736—738.)
- Speiser**, Ein für unsere Fauna neu aufgefundener Tabanus und die Familie der Tabaniden

im allgemeinen. (Schriften d. physik.-ökonom. Ges. Königsberg i. Pr. Jg. XLVI. 1905. ersch. 1906. p. 161—164.)

Biologie (Gärung, Fäulnis, Stoffwechselprodukte etc.)

- Askanasy, M.**, Weitere Mitteilungen über die Quelle der Infektion mit *Distomum felineum*. (Schriften d. physik.-ökonom. Ges. Königsberg i. Pr. Jg. XLVI. 1905 ersch. 1906. p. 127—131.)
- Benignetti, Diego**, Sopra alcune modificazioni dei germi coltivati in terreni umidi ed in terreni secchi. (Riv. d'igiene sanità pubbl. Anno XVII. 1906. N. 9. p. 279—283. 2 Fig.)
- Bruini, G.**, I batteri fosforescenti. (Riv. d'igiene e sanità pubbl. Anno XVII. 1906. N. 10. p. 297—321.)
- Delanoë**, Deuxième note sur la biologie du *Bacillus prodigiosus*. (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 15. p. 728—729.)
- Dickel, Otto**, Nachtrag zu meiner Arbeit: Bisherige Veränderungen der Fauna Mitteleuropas durch Einwanderung und Verbreitung schädlicher Insekten. (Ztschr. f. wiss. Insektenbiol. Bd. II. 1906. Heft 2. p. 50—51.)
- Heinse, Berthold**, Einiges über den Schwefelkohlenstoff, dessen Wirkung auf niedere pflanzliche Organismen, sowie seine Bedeutung für die Fruchtbarkeit des Bodens. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. N. 10/13. p. 329—358.)
- Hutchinson, H. B.**, Ueber Kristallbildung in Kulturen denitrifizierender Bakterien. Abt. II. Bd. XVI. 1906. Heft 10/13. p. 326—328.)
- Japha**, Zur Biologie der Tsetsefliege. (Schriften d. physik.-ökonom. Ges. Königsberg i. Pr. Jg. XLVI. 1905 ersch. 1906. p. 147—149.)
- Lewkowicz, Xaver**, Ueber die Reinkulturen des fusiformen *Bacillus*. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906. Heft 2. p. 153—155. 1 Taf.)
- Malenković, Basilius**, Ueber die Ernährung holzerstörender Pilze. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. N. 10/13. p. 405—416. 1 Fig.)
- Mercier, L.**, Contribution à l'étude du développement des spores chez *Myxobolus Pfeifferi*. (Compt. rend. soc. biol. T. LX. 1906. N. 15. p. 763—764.)
- Nathan, Leopold und Fuchs, Willy**, Ueber die Beziehungen des Sauerstoffes und der Bewegung der Nährlösung zur Vermehrung und Gärtätigkeit der Hefe. [Forts.] (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXIX. 1906. N. 19. p. 282—289; N. 20. p. 299—304.)
- Nielsen, J. C.**, Beiträge zur Biologie der Gattung *Cryptocampus*. (Ztschr. f. wiss. Insektenbiol. Bd. II. 1906. Heft 2. p. 44—47. 2 Fig.)
- Rahn, Otto**, Ein Paraffin zerstörender Schimmelpilz. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. N. 10/13. p. 382—384.)
- Regensburger, Paul**, Vergleichende Untersuchungen an drei obergärigen Arten von Bierhefe. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. N. 10/13. p. 289—303. 3 Taf. 9 Fig.)
- Semádeni, F. O.**, Neue heterözische Rostpilze. [Vorl. Mitt.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. N. 10/13. p. 385.)
- Steenasma, F. A.**, Ueber den Nachweis von Indol und die Bildung von Indol vortäuschenden Stoffen in Bakterienkulturen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906. Heft 2. p. 295—298.)
- Stockhausen, Ferdinand**, Oekologie, „Anhäufungen“ nach Beijerinck. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXIII. 1906. N. 19. p. 232—234; N. 20. p. 241—253; N. 21. p. 253—256. 11 Fig.)
- Will, H. and Wanderscheck, H.**, Beiträge zur Frage der Schwefelwasserstoffbildung durch Hefe. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. N. 10/13. p. 303—309.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft, Wasser, Boden.

- Buhlert und Fickendey**, Zur Methodik der bakteriologischen Bodenuntersuchung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. N. 10/13. p. 399—405.)
- Gutzeit, E.**, Einwirkung des Hederichs auf die Nitrifikation der Ackererde. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. N. 10/13. p. 358—381.)

Nahrungsmittel.

- Levy, E. und Fornet, W.**, Nahrungsmittelvergiftung und Paratyphus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906. Heft 2. p. 161—173.)

Milch, Molkerei.

- Bandini, P.**, Die Wirksamkeit des Formalins und des Wasserstoffsperoxyds in der Milch. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906. Heft 2. p. 271—279.)
- Buttenberg, P.**, Zur Untersuchung der pasteurisierten Milch. (Molkerei-Ztg. Jg. XVI. 1906. N. 19. p. 220—222; N. 20. p. 232—233.)

- Coutts, J. A.**, Pasteurised milk and infant feeding. (Lancet 1906. Vol. I. N. 19. p. 1349.)
Panisset, L., Dangers du lait des animaux tuberculeux. Moyens de les éviter. (L'hyg. gén. et appl. Année I. 1906. N. 3. p. 151—160.)
Schrott-Flechl, Hans, Versuche über die Gewinnung keimarmer Milch auf der Ausstellung für Säuglingspflege in Berlin. [Schluß.] (Molkerei-Ztg. Jg. XVI. 1906. N. 19. p. 219—220.)
Thierry, Émile, La vache laitière. (L'hyg. gén. et appl. Année I. 1906. N. 4. p. 193—202. 3 Fig.)

Bier, Bierbereitung.

- Fuhrmann, Franz**, Zur Kenntnis der Bakterienflora des Flaschenbieres. 1. *Pseudomonas cerevisiae*. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. N. 10/13. p. 309—325. 1 Taf.)
Heinselmann, B., Die Erfindungen auf dem Gebiete des Pasteurisierens von Bier in geschichtlicher Darstellung. [Forts.] (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXIII. 1906. N. 19. p. 234—236; N. 20. p. 246—248; N. 21. p. 256—258. 121 Fig.)
Keil, H., Die im April 1906 untersuchten Biere. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXIII. 1906. N. 19. p. 236—238.)

Wein, Weinbereitung.

- Thomas, G.**, Bleuissement des vins blancs. (Moniteur vinicole. Année LI. 1906. N. 39. p. 154.)

Fleisch.

- Stahmer, Max**, Zu den Vergiftungsfällen durch Fischkonserven. (Konserven-Ztg. Jg. 1906. N. 21. p. 270.)

Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion etc.

- Kisskalt, K.**, Die Verunreinigung der Lahn und der Wiesack durch die Abwässer der Stadt Gießen, mit besonderer Berücksichtigung der Brauchbarkeit der üblichen Methoden zur Untersuchung von Flußverunreinigungen. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. LIII. 1906. Heft 2. p. 305—368. 2 Taf.)
Ramsay, W., Die Reinigung der Abwässer. (Oesterr. Chemiker-Ztg. Jg. IX. 1906. N. 10. p. 135—139. [Internat. Kongr. f. angew. Chemie in Rom].)
Schmidt, Bodo, Untersuchungen über den bakterientötenden und gärungshemmenden Einfluß des haltbaren 3 proz. chemisch reinen, Merckschen Wasserstoffsperoxydes, unter besonderer Berücksichtigung seiner Verwertung als Mundspülwasser. (Hyg. Rundschau. Jg. XVI. 1906. N. 10. p. 517—528.)
Schwinning, Desinfektion und Seuchenvorbeuge. (Molkerei-Ztg. Jg. XX. 1906. N. 20. p. 547—548.)
Strössner, Edmund, Untersuchungen über die bakterizide Kraft des Rohlysoforms. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906. Heft 2. p. 280—286.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

- C. B.**, Le Phylloxéra en Tunisie. (Rev. de viticult. Année XIII. 1906. N. 649. p. 562—563.)
Lécaillon, A., Sur un Puceron (*Aphis papaveris* Fabr.) ennemi de la betterave. (Bull. de la soc. entomol. de France. 1905. N. 18. p. 258—260.)
Lindner, P., Einiges über den Weinbukettschimmel (*Sachsia suaveolens*). (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXIII. 1906. N. 21. p. 258—260. 3 Fig.)
Normant, J., Les chenilles des pommiers à cidre. (Moniteur vinicole. Année LI. 1906. N. 39. p. 154.)
Oppel, Eduard, Der Rebenstecher. (Weinbau u. Kellerwirtsch. Beibl. z. Weinblatt. Jg. IV. 1906. N. 21. p. 83—84.)
Speiser, P., Die Minierfliege des Leberblümchens. (Schriften der physik.-ökonom. Ges. Königsberg i. Pr. Jg. XLVI. 1905. ersch. 1906. p. 194—196.)
 Verheerendes Auftreten einer Grillenart (*Grillus desertus*) in ungarischen Weinbaugebieten. (Weinlaube. Jg. XXXVIII. 1906. N. 20. p. 233.)

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

- Chausit, B.**, La lutte contre le mildiou. (Rev. de viticult. Année XIII. 1906. N. 648. p. 521—522.)
 —, Traitement d'été de la Pyrale. (Rev. de viticult. Année XII. 1906. N. 649. p. 561—562.)
 Die Elektrizität im Kampfe gegen die Reblaus. (Weinlaube. Jg. XXXVIII. 1906. N. 19. p. 217—218.)

Inhalt.

Referate.

- Blackmann, V. H. und Fraser, Miss H. C. J.**, Fertilization in *Sphaerotheca*, p. 746.
- Delacroix, G.**, Sur une pourriture bactérienne des Choux, p. 747.
- Dietel, P.**, Ueber die Arten der Gattung *Phragmidium* I und II, p. 746.
- Eckstein**, Zur genauen Kenntnis des *Pissodes validirostris* Gyll. gleich strobili Redtb., p. 755.
- Endlich, R.**, Die Einschleppungsgefahr des Baumwollrüsselkäfers, p. 755.
- Fuchs**, Etwas über *Pissodes harcyniae* Hbst., p. 754.
- Gorini, C.**, Sulla flora bacteria del formaggio di Grana, p. 742.
- Guéguen, F.**, Les maladies parasitaires de la Vigne (parasites végétaux et parasites animaux), p. 751.
- Güssow**, Ueber eine neue Krankheit an Gurken in England (*Corynespora Mazei*, Güssow gen. et spec. nov.), p. 752.
- Hedgcock, George Grant**, A disease of cultivated Agaves due to *Colletotrichum*, p. 747.
- , A disease of cauliflower and cabbage caused by *Sclerotinia*, p. 747.
- v. Höhnel, Franz**, Mykologische Fragmente, p. 744.
- , Mykologische Fragmente, p. 745.
- Istvánffi, Gy de**, Sur l'hivernage de l'oidium de la vigne, p. 751.
- Korff**, Auswüchse an Kohlblättern, p. 748.
- Lindner, P.**, Einiges über den Weinbukettschimmel (*Sachsia suaveolens*), p. 740.
- Löhnis, F.**, Einführung in die Bakteriologie, p. 738.
- Maquenne, L. et Roux**, Ueber den Einfluß der Reaktion auf die Wirkung der Diastase und die Zusammensetzung der verzuckerten Stärkekleister, p. 740.
- Maublanc, A.**, I. Sur une maladie des Olives due au *Macrophoma dalmatica* (Thüm.) Berl. et Vogl. II. A propos du *Dasyscypha calyciformis* (Willd.), p. 751.
- Puttemans, A.**, Contribution à l'étude de la fumagine des Cafésiers, p. 752.
- Reh, L.**, Die Rolle der Zoologie in der Phytopathologie, p. 753.
- Rodella**, Ueber die Klassifizierung der Bakterienflora der Milch mit besonderer Berücksichtigung der säurelabbildenden Bakterien, p. 741.
- Rossi, C.**, La tossicità dei Sorghi come foraggio fresco, p. 743.
- v. Schrenk, Hermann**, On the occurrence of *Peronospora parasitica* on cauliflower, p. 750.

- v. Schrenk, Hermann**, Intumescences formed as a result of chemical stimulation, p. 753.
- Schröter, A.**, Ueber Protoplasmaströmung bei Mucorineen, p. 743.
- Seligmann, E.**, Ueber die Reduktasen der Kuhmilch, p. 741.
- Sorauer**, Erkrankung von *Cereus nycticalis* Lk., p. 752.
- Stadlinger und Poda**, Rotfleckige Butter, p. 743.
- Stift, A.**, Ueber die im Jahre 1905 beobachteten Schädiger und Krankheiten der Zuckerrübe und einiger anderer landwirtschaftlicher Kulturpflanzen, p. 748.
- Stoklasa, Julius, Jelfinck, Joh. und Ernest, Ad.**, Treten Stickstoffverluste im Boden ein bei Düngung mit Chilisalpeter? p. 739.
- Sullivan**, Synthetic culture media and the biochemistry of bacterial pigments, p. 737.
- Trotter, A.**, Intumescenze foliari di ipomoea Batatas, p. 752.
- v. Tubeuf**, Intumescenzenbildung der Baumrinde unter Flechten, p. 753.
- Vosseler, J.**, Einige Feinde der Baumwollkulturen in Deutsch-Ostafrika, p. 756.
- , Weitere Beobachtungen über Baumwollschädlinge in Deutsch-Ostafrika, p. 757.
- , 1) Kräuselkrankheit der Baumwolle. — 2) Der Fang der Rotwanze, p. 758.
- , 1) Zwei Baumwollkrankheiten. — 2) Immune Baumwollsorten, p. 760.

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

- Cantin, G.**, Sur la destruction de l'œuf d'hiver du Phylloxera par le lysol, p. 764.
- Henneberg, W.**, Zur Kenntnis der Abtötungstemperatur der auf dem Malz lebenden schädlichen Mikroorganismen, p. 761.
- Müller, Erich**, Ein Apparat zum Kochen oder Pasteurisieren von Kindermilch, p. 763.
- Schnegg, H.**, Formaldehyd als Desinfektionsmittel für den Brauereibetrieb, p. 761.
- Teichert**, Beitrag zur Biologie des in Milch gezüchteten *Bacillus typhi murium*, p. 764.
- Tubeuf, K., Freiherr von**, Die Uebernahme der pflanzenschutzlichen Einrichtungen der D. L.-G. auf eine Reichsanstalt, p. 763.
- Utz**, Ueber die Brauchbarkeit der fuchsin-schwefligen Säure zum Nachweise von Formalin in der Milch, p. 763.

Neue Litteratur, p. 765.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Nachdruck verboten.

Die Oxydation des Wasserstoffes durch Mikroorganismen.

[Arbeiten der landwirtschaftlichen Laboratorien und der Versuchswirtschaft der k. k. Hochschule für Bodenkultur in Wien.]

Von Dr. Hermann Kaserer.

Mit 2 Figuren.

(Schluß.)

8. Das Verhalten des *Bacillus oligocarbophilus* zu Kohlenoxyd.

Ob das aus unvollkommenen menschlichen Feuerungen in größeren Mengen in die Atmosphäre entweichende Kohlenoxyd biologisch weiter verwendet werde, war bisher nicht bekannt. Dagegen haben Potain und Drouin¹⁾ festgestellt, daß Kohlenoxyd durch den Sauerstoff der Luft im Tageslichte zu Kohlensäure oxydiert würde. Die Reaktion klärt das Nichtvorhandensein von irgend erheblichen Kohlenoxydmengen in der Luft außerhalb der Städte befriedigend auf. Die genannten Forscher machten bei dieser Oxydation die Beobachtung, daß die Reaktion durch die Anwesenheit von zugefügter oder entstandener Kohlensäure erheblich verzögert werde, und wenn man das gebildete Reaktionsprodukt Kohlensäure nicht beseitigt, überhaupt nicht quantitativ zu Ende geführt werde. Diese Beobachtungen erwiesen das Vorhandensein eines Gleichgewichtszustandes zwischen CO_2 , CO , O_2 bei gewöhnlicher Temperatur.

Es lag nahe, mittels der einfachen und bequemen Methode, welche ich durch die umgekehrte Verwendung der Gärkölbchen gefunden hatte, auch das Kohlenoxyd auf seine Brauchbarkeit für Organismen zu untersuchen. Bei den zu diesem Zwecke mit mineralischer Nährlösung angestellten Rohkulturen bildete sich schon nach wenigen Tagen eine dichte Haut des *B. oligocarbophilus*, und zwar auf der äußeren Flüssigkeitsoberfläche. Gleichzeitig nahm das Volumen des Gases gegenüber der Kontrolle ab. Nebendem *B. oligocarbophilus* ergab die Untersuchung noch mehrere auf Gelatine wachsende Bakterienformen, die jedoch Kohlenoxyd nicht zu oxydieren vermochten. Die Reinkultur des *Bacillus oligocarbophilus* konnte dagegen Kohlenoxyd veratmen, jedoch kam, ebenso wie bei der Rohkultur, die Reaktion offenbar infolge der auch für den Mikroben schädlichen Kohlensäure, die sich bildet, bald zum Stillstand.

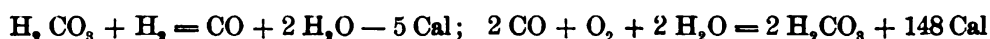
Da jedoch es möglich ist, den Organismus unter Glocken, die man mit Kohlenoxyd, Luft und Kalilauge (um die Kohlensäure zu absorbieren) beschickt, auf Kieselsäureplatten heranzuziehen, wobei jedoch die Launenhaftigkeit des Organismus mitunter sehr stört, da er aus unbekanntem

1) Compt. rend. T. CXXXVI, p. 938.

Ursachen hier und da überhaupt nicht wächst, so ist die Tatsache, daß *B. oligocarboophilus* Kohlenoxyd veratmet, sicher festgestellt.

In geschlossenen Gärkölbchen wächst der Organismus nur dann wenn man sehr wenig Kohlenoxyd und viel Sauerstoff gibt oder mit Luft verdünnt. Es scheint somit daß auch bedeutendere CO-Mengen den *B. oligocarboophilus* ebenso schädigen wie größere Formaldehydmengen den *B. pantotrophus*. Am ehesten kommt man noch zum Ziele, wenn man bei höherer Temperatur (50—55°) kultiviert.

Die von mir gefundene Tatsache, daß *B. oligocarboophilus* Kohlenoxyd als Stoff- und Energiequelle zu verwenden vermag, steht mit dem von Beijerinck und van Delden beobachteten Verhalten dieses Mikroben in vollem Einklang. Denn die Luft des Laboratoriums enthält stets bedeutende Mengen Kohlenoxyd, welches von der unvollkommenen Verbrennung des Leuchtgases herrührt. Der von Henriet gefundene Körper, der ein monosubstituiertes Formamid sein soll, wäre organischer Natur, und es wäre nicht abzusehen, warum ein Mikrobe, der diesen als Nahrung zu verarbeiten im stande wäre, im übrigen sich so außerordentlich ablehnend gegen organische Substanz zeigen sollte. Da jedoch *B. oligocarboophilus* jene Eigenschaften, die vordem nur an autotrophen Organismen gefunden wurden, im höchsten Grade besitzt, so ist es doch gewiß höchst wahrscheinlich, daß er eine autotrophe Lebensweise besitzt. Die wirkliche Tätigkeit dieser Mikroben wäre eben die Oxydation des Wasserstoffes, die Lebensweise, wie sie Beijerinck und van Delden beschrieben haben, und wie ich sie mit Kohlenoxyd künstlich herbeiführen konnte (Beijerinck nennt sie treffend „biologische Reinigung der Luft“) wäre nur ein Teil der natürlichen Tätigkeit des Mikroben. Das einzige Bedenken, welches man gegen die Auffassung, daß die Reaktionen



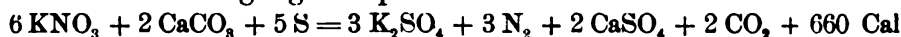
Zweck und Lebenstätigkeit des *Bacillus oligocarboophilus* sind, haben könnte, wäre, daß darüber, ob bei Gegenwart von Kohlensäure und Wasserstoff bei gewöhnlicher Temperatur sich Spuren von Kohlenoxyd bilden, Beobachtungen nicht vorliegen. Doch da vom chemischen Standpunkt aus dies keineswegs unmöglich erscheint, so könnte auch, trotzdem die Reaktion schwach endotherm ist, dieselbe durch einen organischen Katalysator derart beschleunigt werden, daß der Mikrobe das Kohlenoxyd ebenso als Nahrung verwenden kann, wie *Bacillus pantotrophus* dies mit dem katalytisch erzeugten Formaldehyd tut. Die zur Reaktion nötige Wärme müßte eben durch die im Anschlusse daran im Mikroben vor sich gehende stark exotherme Oxydation des Kohlenoxydes zu Kohlensäure geliefert werden.

Die Tatsache, daß Kohlenoxyd sowohl chemisch durch den Luft-sauerstoff, als auch durch weitverbreitete Mikroben oxydiert werden kann, macht die an sich wenig wahrscheinlichen Befunde von Bottomley und Jackson¹⁾, daß auch grüne Pflanzen Kohlenoxyd veratmen können, noch zweifelhafter, da ja auf einer der beiden Arten oder auf beide das Kohlenoxyd verschwunden sein kann und die Pflanzen die daraus entstandene Kohlensäure assimilierten.

1) Proceed. Royal Soc. 1903. Vol. LXXII. p. 130, zitiert nach Czapek, Biochemie d. Pflanzen. Bd. I. p. 428.

9. Gibt es eine Oxydation des Wasserstoffes durch anaerobe Prozesse?

Es war naheliegend, nach dem günstigen Ergebnisse, welches die Versuche zur Aufsuchung aërober wasserstoffoxydierender Organismen hatten, auch danach zu forschen, ob es nicht Lebewesen gebe, die befähigt sind, Wasserstoff unter gleichzeitiger Reduktion sauerstoffhaltiger Körper zu oxydieren. Diese Versuche schienen um so mehr Aussicht auf Erfolg zu bieten, als Beijerinck¹⁾ vor einiger Zeit einen kleinen Bacillus isoliert hat, den er Thiobacillus denitrificans nennt und der befähigt ist, elementaren Schwefel zu Sulfat zu oxydieren auf Kosten von Sauerstoff, den er einem Nitrate unter Entbindung von Stickstoff entzieht. Dieser Vorgang entspricht der Formel



und ist somit stark exotherm.

Für eine Oxydation des Wasserstoffes durch anaerobe Organismen kämen zunächst die exothermen Prozesse der Denitrifikation, der Sulfat-reduktion und der Reduktion von Ferriverbindungen in Betracht.

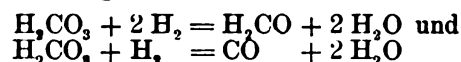
Zahlreiche von mir unter Benützung entsprechender Lösungen, geschlossener Gärkölbchen und verschiedenen Impfmateriale angestellte Versuche hatten sämtlich einen negativen Erfolg. Wenn nun auch negative Erfolge an sich niemals zu Schlüssen berechtigen, so kann aus meinen vielen diesbezüglich angestellten Versuchen doch geschlossen werden, daß in der Ackererde Organismen, die diese Prozesse einzuleiten imstande wären, sich nicht vorzufinden scheinen. Ob in anderen Medien, so insbesondere in dem eine unerschöpfliche Fundgrube bietenden Grabenschlamm der holländischen Kanäle, solche Organismen sich nicht doch finden, bleibt eine offene Frage.

In den geschlossenen Gärkölbchen fand sich öfters Bacillus oligo-carbophilus als dünne Haut. Doch bewirkte dieser Aërobier niemals einen anaeroben Prozeß, sondern oxydierte Wasserstoff mit Hilfe der unvermeidlichen Spuren Sauerstoff, die in der Impferde, im Wasserstoff u. s. w. enthalten waren. Daher kam dieser Prozeß in kurzer Zeit zum Stillstand.

Versuche, Kohlenoxyd durch anaerobe Organismen zu oxydieren, hatten gleichfalls keinen Erfolg.

10. Betrachtungen über die Kohlensäureassimilation.

Die in den vorhergehenden Kapiteln dargestellten Tatsachen, daß die Oxydation des Wasserstoffes durch zweierlei Mikrobenarten erfolgen kann, die nach zwei chemisch gänzlich verschiedenen Systemen arbeiten, wonach also eine doppelte Reaktionsfähigkeit der Kohlensäure in der Weise zu bestehen scheint, daß dieselbe mit Wasserstoff schon bei gewöhnlicher Temperatur reagiert und zwar:



führen naturgemäß zu einer gänzlich neuen Auffassung des Assimilationsproblems an sich.

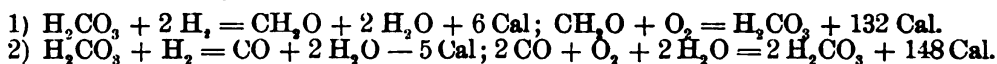
Wenn ich im folgenden diese größtenteils hypothetische Auffassung den Fachgenossen übermittle, so bin ich mir wohl bewußt, daß vieles

1) Centralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. XI. p. 594.

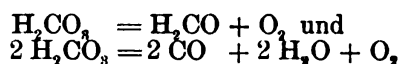
daran eines Beweises bedürftig ist. Dennoch halte ich mich für berechtigt, die neue Hypothese vorzutragen, da es mir durch die Aufklärung der Physiologie von *B. pantotrophus* gelungen ist, wenigstens für einen Spezialfall den Schleier, der über dem ganzen verwickelten und einer direkten experimentellen Untersuchung schwer zugänglichen Problem bisher lag, ein wenig zu lüften.

Da ich mit mancherlei auf die Frage Bezug habenden und meine Hypothese stützenden Versuchen beschäftigt bin, so hoffe ich in kurzer Zeit an anderem Orte auf die Frage nochmals umfassend zurückzukommen und habe daher auch eine kritische Besprechung der Literatur des gesamten Gebietes für jenen Zeitpunkt vorbehalten.

Wie im Früheren bereits erwähnt, geht die Oxydation des Wasserstoffes nach zwei Systemen vor sich, nämlich:



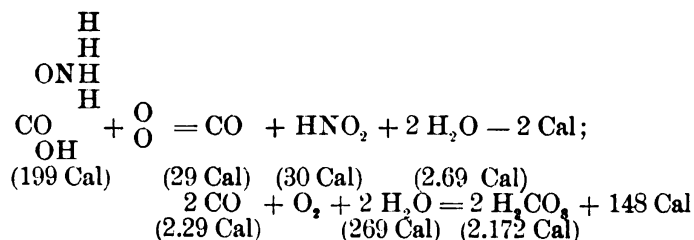
Diesen Reaktionen entsprechen auch die Eigenschaften der betreffenden Organismen, für 1) des *Bacillus pantotrophus*, der als Vertreter der Kohlenhydratwelt auf fast allen Nährböden leben kann, wogegen für 2) der Vertreter der Kohlenoxydwelt, *Bacillus oligocarboophilus*, gegen organische Substanz äußerst empfindlich ist. Ob die Reaktionen in der vorbeschriebenen Weise vor sich gehen, oder ob die Kohlensäure an sich dissociert ist, einerseits in



und durch den Wasserstoff der entstehende Sauerstoff gebunden und dadurch das Gleichgewicht gestört wird, käme schließlich auf dasselbe hinaus, doch möchte ich die oben aufgestellte Annahme, daß der Wasserstoff Veranlassung zur Formaldehydbildung gebe, für wahrscheinlich er halten. Die einzige Tatsache, die für die zweite Möglichkeit spricht, ist die Giftigkeit größerer Kohlensäuremengen gegenüber *B. oligocarboophilus* auch dann, wenn er von Kohlenoxyd lebt, wenn man nicht annehmen will, daß in diesem Falle einzig die (ja auch bei der chemischen Oxydation stattfindende) Behinderung der Kohlenoxydoxydation das schädliche Moment darstellt.

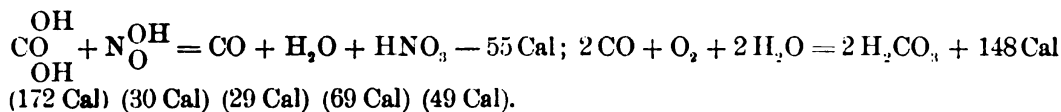
Wir hätten also zwei ganz getrennte Kreise von Organismen, die in verschiedener Weise assimilieren, nämlich die Kohlenhydratwelt und die Kohlenoxydwelt. Die bisher bekannten sogenannten autotrophen Organismen scheinen der Kohlenoxydwelt anzugehören und zeigen daher eine außerordentliche Empfindlichkeit gegen organische Substanzen.

Die Annahme, daß bei den bisher bekannten autotrophen Organismen, nämlich dem Nitritbildner und dem Nitratbildner, Kohlenoxyd das primäre Assimilationsprodukt sei, findet auch darin eine Stütze, daß eben diese die an sich befremdliche, jedoch bis jetzt von keiner Seite entsprechend gewürdigte Tatsache, daß die Oxydation des Ammons zu Nitrat in zwei Phasen erfolgt, aufklärt. Die Reaktionen wären, zunächst für den Nitritbildner:



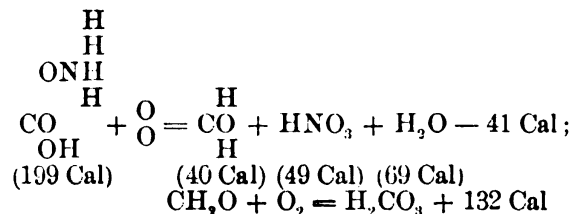
Diese Hypothese würde somit voraussetzen, daß das saure kohlen-saure Ammon bei Gegenwart von Sauerstoff in wässriger Lösung spurenweise in Kohlenoxyd und salpetrige Säure dissociert, welcher Prozeß durch den Nitritbildner derart beschleunigt wird, daß das entstehende Kohlenoxyd von demselben als Kohlenstoff- und als Energiequelle für die erste endotherme Phase des Prozesses verwendet werden kann. Wäre diese Annahme richtig, so müßte der Nitritbildner ebenso wie *B. oligocarophilus* von Kohlenoxyd leben können, das ist natürlich noch zu beweisen. Eine Stütze dieser Hypothese liegt darin, daß, wie Winogradsky¹⁾ angibt, die Nitritation in Reinzuchten außerordentlich verlangsamt wird, wenn man von vornherein Nitrit zugibt; dies stimmt damit überein, daß die Zugabe eines Dissociationsproduktes die Dissociation herabsetzt. Die außerordentliche Schädigung des Nitritbildners durch Harnstoff wäre dann so zu erklären, daß der Harnstoff durch sein Reduktionsvermögen die Entstehung von salpetriger Säure und damit gleichzeitig von Kohlenoxyd in Spuren verhindert.

Für den Nitratbildner wäre die Reaktion:



Wie bei beiden vorher besprochenen Kohlenoxydreaktionen müßte auch hier die bei der Oxydation des Kohlenoxydes freiwerdende Wärme die Energie liefern, um die katalysierte Reaktion überhaupt zu ermöglichen. Auch der Nitratbildner müßte von Kohlenoxyd leben können. Wieso das Ammoniak den Nitratbildner schädigt, bliebe aufzuklären.

Wenn meine Hypothese des Vorhandenseins zweier Gruppen autotropher Organismen richtig ist, so besteht große Wahrscheinlichkeit, daß ein Organismus existiert, der einerseits die Reaktion



ausführt, das heißt also Ammoniak ohne Zwischenprodukt in Nitrat überführt, andererseits aber gegen Formaldehyd relativ unempfindlich ist und auf Gelatine wächst. Mit Berücksichtigung der für diesen Mikroben theoretisch ermittelten Eigenschaften ist es mir nun in der Tat gelungen, denselben, vorläufig allerdings bloß in Rohkultur, aus Ackererde anzuhäufen, welche Tatsache ich als Stütze meiner Hypothese anführen möchte.

Was nun endlich die Assimilation der grünen Pflanzen anlangt, so würde diese, da die grünen Pflanzen der Kohlenhydratwelt angehören, etwa in folgender Weise verlaufen:

1) Photolyse der Kohlensäure bzw. des Wassers durch das Chlorophyll. Von den Endprodukten der Photolyse tritt der Sauerstoff aus, der Wasserstoff dagegen tritt

1) Nach Lafar, Handb. d. techn. Mykologie. Bd. III. p. 132.

2) unter Einfluß eines formaldehydbildenden Enzymes mit Kohlensäure zu Formaldehyd und Wasser zusammen, endlich wird

3) der Formaldehyd zu höheren Kohlenhydraten kondensiert und dadurch unschädlich gemacht.

Für die Prozesse 2 und 3 liegt in *Bacillus pantotrophus* ein typisches Beispiel vor, ob auch grüne Pflanzen ähnliche Prozesse einleiten können, bleibt aber natürlich eine offene Frage, deren Entscheidung nur mit Hilfe neuer Versuche getroffen werden kann. Immerhin haben einige von mir angestellte Vorversuche zur Stütze meiner Hypothese ermutigende Resultate ergeben und hoffe ich, dieselben bald veröffentlichen zu können.

Ob das Wasser photolytisch in H_2 , O, oder in H, OH zerlegt wird, wage ich nicht zu entscheiden. Eine Zerlegung in H, OH würde die Entstehung von Wasserstoffsperoxyd, das dann durch die Katalase unter Sauerstoffentbindung zerlegt würde, erklären und insofern besser mit den neuesten Befunden von Fr. L. Usher und J. H. Priestley¹⁾ übereinstimmen. Die genannten Autoren nehmen an, daß die Kohlensäure photolytisch in Formaldehyd und Wasserstoffsperoxyd zerfalle, d. h. sie verschieben eigentlich den ganzen Assimilationsvorgang in die Photolyse, eine Sache, die wir kaum kennen. Daß damit für die Erklärung des Problems nichts getan ist, ist klar. Die bekannten Bachschen Versuche mit Uranacetat beweisen gar nichts, da bekanntlich Uransalze fast immer radioaktiv sind und dadurch allein die ganze Sache ungeheuer kompliziert wird.

Eine Photolyse des Wassers in H, OH dagegen ist keineswegs undenkbar, zumal chemische Prozesse, bei denen das Wasser im Licht in H, OH zerfällt und auch so reagiert, bekannt sind.

Die von den genannten Autoren für ihre Hypothese angeführte Tatsache, daß Elodeasprosse, die durch Eintauchen in kochendes Wasser während 30 Sekunden getötet waren, Formaldehyd bildeten, könnte ebensogut auch so gedeutet werden, daß durch das kurze Erhitzen eben nur die Enzyme, die die Zerlegung des Wasserstoffsperoxydes und die Kondensation des Formaldehydes zu Zucker bewirken, abgetötet wurden, daß dagegen die widerstandsfähigeren Stoffe, die die Zerlegung des Wassers und die Reduktion der Kohlensäure vermitteln, erhalten blieben.

Ob es auch Angehörige der Kohlenoxydwelt gibt, die mit Hilfe der Energie des Lichtes assimilieren können, scheint mir vorläufig eine dunkle Frage zu sein. Doch möchte ich glauben, daß auch solche Lebewesen existieren, die natürlich entsprechend der an sich geringen Größe der bisher bekannten Vertreter der Kohlenoxydwelt eine geringe Größe kaum übersteigen dürften.

Das Studium dieser Frage wäre vielleicht von ebenso großer Bedeutung für die Biologie, wie das Studium der chemischen Zusammensetzung der Organismen aus der Kohlenoxydwelt, für welches mit Reinzuchten des *B. oligocarbophilus* in kohlenoxydhaltiger Laboratoriumsluft vielleicht am ehesten das nötige Material beschafft werden könnte.

Am Schlusse meiner Ausführungen, die, wie ich nicht verkenne, in so mancher Beziehung einer Ergänzung bedürftig sind, was sich durch

1) Proceed. Roy. Soc. Vol. LXXVII. 1906. p. 369, referiert in Naturwiss. Rundschau. Bd. XXI. p. 212.

die vielfachen experimentellen Schwierigkeiten und meine starke Inanspruchnahme durch andere Obliegenheiten erklärt, kann ich nicht umhin, dem hochlöblichen Professorenkollegium der k. k. Hochschule für Bodenkultur für die Zuwendung des Kaiser Franz Josef-Jubiläumsstipendiums, aus welchen Mitteln die nötigen Spezialapparate u. s. w. beschafft wurden, meinen ergebensten Dank abzustatten. Herr Hofrat Prof. Dr. v. Liebenberg hat mich durch sein liebenswürdiges Entgegenkommen, unter anderem durch Schaffung eines eigenen bodenbakteriologischen Laboratoriums an seiner Lehrkanzel, zu besonderem Danke verpflichtet. Die Herren Professoren Dr. W. Winkler und Dr. S. Zeisel haben mich durch ihren Rat in manchen schwierigen Fällen unterstützt; ich gestatte mir, auch ihnen an dieser Stelle nochmals zu danken.

Resultate.

1. *Bacillus pantotrophus* n. sp. ist ein in Ackererde verbreiteter beweglicher Mikrobe, der aërob Wasserstoff oxydiert. Dieser sowohl autotroph als auch heterotroph (auf fast allen Nährböden) wachsende Mikrobe oxydiert den Wasserstoff in der Weise, daß er katalytisch die Reduktion von Kohlensäure zu Formaldehyd durch den Wasserstoff derart beschleunigt, daß der Formaldehyd ihm als Nährstoff dienen kann.

2. *Bacillus oligocarbophilus* Beij. u. v. Delden ist befähigt, Kohlenoxyd zu veratmen. In Symbiose mit anderen Bakterien oxydiert dieser Mikrobe auch Wasserstoff. Diese Oxydation scheint in der Weise vor sich zu gehen, daß katalytisch die Reduktion der Kohlensäure zu Kohlenoxyd durch den Wasserstoff derart beschleunigt wird, daß der Mikrobe das Kohlenoxyd als Nährstoff verwenden kann.

3. Die Assimilation der Kohlensäure scheint überhaupt auf zwei Arten möglich zu sein:

a) Als Reduktionsprodukt entsteht Formaldehyd, der dann weiterverarbeitet wird. Nach diesem Schema arbeitet *Bacillus pantotrophus*, es scheinen aber auch die grünen Pflanzen in dieser Weise zu assimilieren.

b) Als Reduktionsprodukt entsteht Kohlenoxyd. Nach diesem Schema arbeitet *Bacillus oligocarbophilus*. Auch die anderen bisher bekannten autotrophen Mikroorganismen scheinen in dieser Weise zu arbeiten, woraus sich ihre Empfindlichkeit gegen organische Substanz erklärt.

Nachdruck verboten.

Weitere bakteriologische Untersuchungen mit der Stuttgarter Markt- und Handelsbutter.

[Aus der bakteriologischen Untersuchungsstation der Stadt Stuttgart.
Vorstand: Stadtarzt Dr. med. Gastpar.]

Von **Adolf Reitz**,

Assistent an der bakteriologischen Untersuchungsstation der Stadt Stuttgart.

Mit 1 Tafel und 15 Kurven.

(Schluß.)

Die 12 Mikroben wirkten nach zweierlei Richtung auf das Butterfett ein.

I. Indifferent wirkten die verwendeten Milchsäurebakterien und die Tyrothrix-Arten.

II. Die übrigen Mikroben bewirkten Fettspaltung.

1) Die Spaltung des Fettes wurde in höherem Maße bei *Oidium*, *Penicillium*, *Mucor*, so auch bei dem *Bac. fluorescens liquefaciens* beobachtet, im geringeren Maße haben einen ähnlichen Einfluß *Saccharomyces* und die zwei Bacillenarten ausgeübt.

Auch wurde der Beweis erbracht, daß durch die Vegetation der angewandten Schimmelpilze die freigewordenen nichtflüchtigen Fettsäuren ihre Entstehung nicht der Spaltung der Eiweißstoffe des Käses, sondern lediglich der Fettspaltung allein verdanken, denn während der Reifung des Käses, welcher aus möglichst fettfreiem Kasein zubereitet worden ist, wurde keine Vermehrung des Fettes als Folge von chemischen Vorgängen in der Käsemasse beobachtet, sondern nur eine geringe Zunahme desselben infolge der synthetischen Tätigkeit der Schimmelpilzzellen (*Oidium* und *Penicillium*), welche fettartige Reservestoffe ablagerten.

2) Die Fettspaltung ging nicht bei allen Glyceriden des Butterfettes gleichmäßig vor sich und wurde dieselbe hauptsächlich von zwei Umständen veranlaßt.

Einerseits steigt die Schädlichkeit der freigewordenen löslichen Fettsäuren gegenüber den Schimmelpilzen mit der steigenden Molekulargröße, andererseits werden die Glyceride der unlöslichen Fettsäuren, welche eine höhere Molekulargröße besitzen, von den Schimmelpilzen leichter gespalten.

3) Die freigewordenen flüchtigen Fettsäuren werden durch Schimmelpilze weiter zerlegt.

4) *Bacillus fluorescens liquefaciens* bewirkte die Spaltung der Glyceride der nicht flüchtigen und flüchtigen Fettsäuren und ging der Vorgang bei der Spaltung der nicht flüchtigen Säuren auf dieselbe Art vor sich wie bei den Schimmelpilzen.

5) Die Ursache der Glyceridespaltung wurde beim *Penicillium* und *Mucor* in der Gegenwart von Enzymen gefunden, welche die Fähigkeit besitzen, sowohl das Monobutyrin als auch das Butterfett zu spalten.

6) Beim Ammoniak wurde kein Einfluß auf die Zerlegung der Glyceride der nicht flüchtigen Säuren bei Zimmertemperatur wahrgenommen.

Noch ist auf eine Arbeit von Rogers über die Ursachen der bei in Büchsen verpackten Butter vorkommenden Zersetzungen hinzuweisen. Rogers faßt seine Resultate in folgende Sätze zusammen:

1) Hermetisch in Blechbüchsen verpackte Butter entwickelt im Laufe der Zeit einen verhältnismäßig niedrigen Säuregrad und einen unangenehmen „fischigen“ Geschmack.

2) Durch Erhitzen sterilisierte Butter bleibt unter gleichen Bedingungen unverändert.

3) Bakteriologische Untersuchungen alter, in Büchsen konservierter Butter zeigen, daß sich nur noch die widerstandsfähigsten Bakterienarten vorfinden.

4) Untersuchungen von frisch in Büchsen verpackter Butter ließen irgend welche Arten von butterfetzersetzenden Bakterien nicht feststellen. Eine schwache lipolytische Tätigkeit besitzende *Torula*-Hefen wurden im allgemeinen gefunden, waren aber nicht sehr zahlreich. Die Zahl der Bakterien, sowie der Hefen verminderte sich schnell.

5) Die Säurezahl wuchs langsam, aber ununterbrochen, nachdem die Bakterien fast alle und die Hefen ganz verschwunden waren.

6) Erhitzte Portionen von in Büchsen verpackter Butter blieben unverändert, während nicht erhitzte Portionen derselben Butter, mit Antiseptikum präserviert, ihren Säuregrad erhöhten und dadurch die wahrscheinliche Tätigkeit eines lipolytischen Enzyms zeigten.

7) Die *Torula*-Hefe T, die als Typus der in Butter vorkommenden, fakultativ anaerobischen Organismen angesehen werden kann, scheidet ein lipolytisches Enzym aus.

8) Die Säurezahl der aus erhitztem Rahm gewonnenen und mit diesem Organismus geimpften Butter erhöhte sich bemerkenswert, während die nicht geimpfte Kontrolle unverändert blieb.

9) Das Enzym, dessen Vorkommen in Kuhmilch durch Mafan und Giletät bestätigt worden ist, rief eine entschiedene Erhöhung des Säuregrads im Butterfett hervor.

10) Aus erhitztem Rahm bereitete und mit einem Antiseptikum präservierte Butter blieb unverändert, während die Butter aus einer nicht erhitzten Portion desselben Rahmes, in der die Tätigkeit von Organismen durch einen Zusatz von Formaldehyd aufgehoben worden war, ihre Säurezahl entschieden erhöhte.

11) Die Resultate dieser Untersuchungen deuten auf die Folgerung hin, daß die gewöhnlich vorkommenden oder zuerst stattfindenden Veränderungen der in Büchsen verpackten Butter, durch welche dieselbe ihren guten, frischen Geschmack verliert und dem Geschmacksinne mehr oder weniger unangenehm wird, durch einen Säurefreisetzungsprozeß, der, wenn nicht ganz, doch meistens von der Tätigkeit eines mit der Milch aus dem Euter der Kuh ausgeschiedenen oder, wie es wenigstens in manchen Fällen vorkommt, in der Butter selbst durch die Aktivität gewisser Mikroorganismen produzierten Enzymes verursacht, hervorgerufen wird.

12) Auch scheint es immerhin annehmbar, daß auch diese Faktoren — die lipolytischen Enzyme der Milch gemeinschaftlich tätig mit den Hefen und den von ihnen produzierten Enzymen — für den sogenannten „fischigen“ Geschmack der in großen, nicht dicht verschlossenen Gefäßen verpackten Butter verantwortlich sind, aber diese Annahme bedarf noch eines Beweises.

Wenden wir uns nunmehr nach diesen Betrachtungen zu der Frage, welche Arten von Mikroorganismen die Stuttgarter Butter enthält, so mögen folgende Angaben dies erläutern:

In allen Butterproben wurden gefunden:

Bacterium lactis acidi Leichmann,
Bacillus (butyri) fluorescens liquefaciens,
Staphylococcus pyogenes albus,
Staphylococcus pyogenes aureus,
Streptococcus pyogenes,
Micrococcus sulfureus,
Micrococcus roseus,
Sarcina flava,
Actinomyces (Tafel I rechts),
Oidium lactis,
Saccharomyces rosaceus,
 Mehrere Arten von Schimmelpilzen (Tafel I links).

Sehr häufig, jedoch nicht in allen Butterproben wurden gefunden:

Bacterium prodigiosum,
Bacterium coli commune,
Micrococcus cerasinus.

Die meisten Bakterienarten, wie sie vorstehend genannt wurden, sind auf Tafel 1 zu finden.

Von einer größeren Anzahl von Butterproben wurden kleinere Mengen im Brutschrank (37°) und im Eisschrank längere Zeit (bis zu 619 Tagen aufbewahrt und damit Untersuchungen angestellt.

Die im Brutschrank aufbewahrten Proben zeigten nach dieser Zeit in der Regel ein rötlichbraunes Sediment und eine klare gelbe überstehende Fettlösung. Die Untersuchung wurde folgendermaßen vorgenommen: 3 ccm der Fettlösung wurden in ein Becherglas gebracht, in 10 ccm Aether-Alkohol (1:1) gelöst und mit $\frac{1}{20}$ Normalnatronlauge und 1 Proz. alkoholischer Phenolphthaleinlösung als Indikator titriert. (Die verbrauchten Kubikcentimeter $\frac{1}{20}$ N.NaOH wurden auf 1 ccm Fettlösung umgerechnet.)

Die bakteriologische Untersuchung wurde wie folgt ausgeführt:

Einige Tropfen der Fettlösung wurden in 100 ccm steriles Wasser verbracht und in diesem durch Erwärmen des Wassers auf 30—35° zur Emulsion gelöst. Von der Emulsion wurden 0,5—1 ccm in Glycerinagar gebracht und damit Platten gegossen. Nach vorsichtigem Abschütten der Fettlösung wurde ein Teil des gewöhnlich schmierigen Sediments in Wasser verbracht. Von der Emulsion wurden wie oben Platten angefertigt.

Die Untersuchung der im Eisschrank aufbewahrten Proben gestaltete sich folgendermaßen:

Die Butterproben wiesen beim Durchschneiden 2 durch ihr Aussehen wesentlich verschiedene Teile auf. Die Partien, die nicht an den Glasrand stießen, zeigten einen dichten Schimmelbelag¹⁾, der bis zu einer Tiefe von 1 ccm aus der Butter eine graubraune schmierige Masse gemacht hatte. Die innere Partie, sowie diejenigen Teile, die mit der Glas-

1) Auf Tafel I unten rechts ist eine Butterprobe dargestellt, die 619 Tage im Eisschrank stand. Oben rechts sind Keimarten aus derselben. Die größeren strahlenförmigen Kolonien sind *Oidium lactis*.



Reitz gez.

Verlag von Gustav



Fischer in Jena.

Lith Anst v Johannes Arndt Jena.

wand in Berührung standen, hatten ein gelblichweißes Aussehen und ebenfalls schmierige Konsistenz. Alle Butterproben hatten einen stark ranzigen Geruch.

Von beiden Teilen wurden kleine Stückchen in 100 ccm steriles Wasser gebracht, dieses auf etwa 35° gebracht, durch Schütteln die Butter fein zerteilt und sodann Platten gegossen.

Die Resultate dieser Untersuchungen sind in den folgenden Tabellen dargestellt:

(Siehe Tabellen p. 780, 781.)

Zusammenfassung der Resultate.

1) Typhusbakterien und Diphtheriebacillen konnten in der Butter nicht nachgewiesen werden.

2) Bei der Untersuchung der Butter (vielleicht auch der Milch) auf Typhusbacillen ist das Ficker-Hofmannsche Verfahren am empfehlenswertesten, wenn 20 ccm Kristallviolettlösung (0,1 g in 100 ccm H₂O) zu 250 g Butter gegeben werden.

3) Typhusbacillen, die künstlich Butter aus ungesäuertem Rahm beigefügt worden waren, wurden nach 10 Tagen noch lebensfähig gefunden. Nach 15 Tagen mißlang dieser Nachweis. In Butter aus angesäuertem Rahm waren die Typhusbacillen nach 7 Tagen noch lebensfähig, nicht mehr lebensfähig nach 10 Tagen.

4) Die Keimzahl der Stuttgarter Butter bewegt sich je nach der Güte der Milch, die verarbeitet wurde, und der Reinlichkeit, mit der die Butterbereitung vorgenommen wurde, zwischen **9 Millionen** und **40 Millionen** Keimen im Gramm Butter.

5) Der Verwendung von Pasteurisatoren im Molkereibetrieb sollte aus rein hygienischen Gründen wie aus milchwirtschaftlichen Gründen die größte Aufmerksamkeit geschenkt werden, wie dies leider seitdem nur in verschwindend geringem Maße in Württemberg der Fall war.

6) Bei den Keimzahlbestimmungen ist Gelatinenährboden dem Agarnährboden vorzuziehen.

7) Die Keimzahl erleidet bei der Aufbewahrung der Butter wesentliche Aenderungen. Sie nimmt in den ersten Tagen der Aufbewahrung ab, um in der 2. bis 3. Woche auf das 2- bis 3fache der ursprünglichen Keimzahl hinaufzuzschnellen und sodann wieder abzunehmen.

8) Von Bakterienarten sind besonders erwähnenswert: *Bacterium coli commune*, *Streptococcus pyogenes*, *Bacterium prodigiosum* (dessen Ursprung im Wasser zu suchen ist), *Actinomyces*- und *Saccaromyces*-Arten, welche beiden letzteren neben Schimmelpilzen nach den Untersuchungen ein erheblicher Einfluß auf die Ranzigkeit der Butter zuzuschreiben ist.

Am Schlusse dieser Arbeit möchte ich meinem verehrten Chef, Herrn Stadtarzt Dr. med. Gastpar für das Wohlwollen, das er auch dieser Arbeit entgegengebracht hat, meinen Dank aussprechen. Ein Teil der Tafel wurde in liebenswürdigster Weise von Frl. Andler und Frl. Rommel, Lehrerinnen an der städt. Kunstgewerbeschule ausgeführt, wofür ich auch an dieser Stelle meinen besten Dank sage.

Stuttgart, am 24. Februar 1906.

Tabelle IVA. Untersuchungen der im Brutschrank aufbewahrten Butter.

| No. der Butterprobe | Die Butter wurde | | Alter der Butter beim Kauf Tage | Die Butter stand im Brutschrank Tage | 1 ccm Butterfett verbrauchte $\frac{1}{100}$ N.NaOH ccm | Bakteriologische Untersuchung von | |
|---------------------|------------------|---------------|---------------------------------|--------------------------------------|---|-----------------------------------|------------------------------------|
| | gekauft am | untersucht am | | | | Butterfett | Sediment |
| 1 | 4. 6. 04 | 7. 2. 06 | 3 | 614 | 1,8 | Actinomyces, Saccharomyces | Kokken, Saccharomyces |
| 2 | 4. 6. 04 | 7. 2. 06 | 2 | 614 | 1,4 | Saccharomyces | Saccharomyces, Kokken |
| 3 | 6. 6. 04 | 7. 2. 06 | 2 | 612 | 1,74 | Saccharomyces, Actinomyces | Saccharomyces, Actinomyces |
| 4 | 12. 6. 04 | 7. 2. 06 | 2 | 606 | 1,9 | Actinomyces | Actinomyces |
| 5 | 15. 6. 04 | 7. 2. 06 | 3 | 603 | 3,3 | Saccharomyces, Actinomyces | Saccharomyces |
| 6 | 20. 6. 04 | 7. 2. 06 | 3 | 598 | 1,5 | Saccharomyces | Saccharomyces |
| 7 | 26. 6. 04 | 7. 2. 06 | 2 | 592 | 1,0 | Saccharomyces, Actinomyces | Kokken, Saccharomyces, Actinomyces |
| 8 | 4. 7. 04 | 7. 2. 06 | 2 | 583 | 2,94 | Saccharomyces, Actinomyces | Saccharomyces, Actinomyces |
| 9 | 4. 7. 04 | 7. 2. 06 | 3 | 583 | 3,6 | Saccharomyces, Actinomyces | Actinomyces |
| 10 | 11. 7. 04 | 10. 2. 06 | 1 | 579 | 1,8 | Actinomyces, Saccharomyces | Actinomyces, Saccharomyces |
| 11 | 19. 7. 04 | 10. 2. 06 | 2 | 571 | 1,96 | Actinomyces, Saccharomyces | Actinomyces, Saccharomyces |
| 12 | 22. 7. 04 | 10. 2. 06 | 2 | 568 | 2,0 | Saccharomyces | Saccharomyces |
| 13 | 25. 7. 04 | 10. 2. 06 | 3 | 565 | 3,0 | Saccharomyces, Actinomyces | Saccharomyces, Actinomyces |
| 14 | 27. 7. 04 | 10. 2. 06 | 3 | 563 | 2,1 | Actinomyces | Actinomyces, Saccharomyces |
| 15 | 30. 7. 04 | 12. 2. 06 | 3 | 562 | 1,5 | Saccharomyces, Actinomyces | Saccharomyces, Actinomyces |
| 16 | 2. 8. 04 | 12. 2. 06 | 2 | 559 | 4,0 | Saccharomyces, Actinomyces | Saccharomyces, Actinomyces |
| 17 | 2. 8. 04 | 12. 2. 06 | 4 | 559 | 1,0 | Saccharomyces, Actinomyces | Saccharomyces, Actinomyces |
| 18 | 4. 8. 04 | 12. 2. 06 | 3 | 557 | 1,0 | Saccharomyces, Actinomyces | Saccharomyces, Actinomyces |
| 19 | 9. 8. 04 | 12. 2. 06 | 3 | 552 | 1,5 | Saccharomyces | Saccharomyces |
| 20 | 9. 8. 04 | 12. 2. 06 | 3 | 552 | 2,4 | Saccharomyces, Actinomyces | Saccharomyces, Actinomyces |
| 21 | 13. 8. 04 | 12. 2. 06 | 1 | 548 | 1,8 | Actinomyces, Saccharomyces | Actinomyces |
| 22 | 13. 8. 04 | 12. 2. 06 | 2 | 548 | 1,86 | Saccharomyces, Actinomyces | Saccharomyces, Actinomyces |
| 23 | 17. 8. 04 | 14. 2. 06 | 2 | 546 | 1,66 | Actinomyces, Saccharomyces | Actinomyces, Saccharomyces |
| 24 | 17. 8. 04 | 14. 2. 06 | 3 | 546 | 2,0 | Saccharomyces | Saccharomyces, Actinomyces, Kokken |
| 25 | 19. 8. 04 | 14. 2. 06 | 2 | 544 | 1,8 | Actinomyces, Saccharomyces | Saccharomyces |
| 26 | 20. 8. 04 | 14. 2. 06 | 1 | 543 | 1,32 | Saccharomyces, Actinomyces | Saccharomyces, Actinomyces |
| 27 | 24. 8. 04 | 14. 2. 06 | 2 | 539 | 1,5 | Saccharomyces, Actinomyces | Saccharomyces, Actinomyces |
| 28 | 26. 8. 04 | 14. 2. 06 | 1 | 537 | 2,6 | Saccharomyces, Actinomyces | Saccharomyces, Actinomyces |
| 29 | 27. 8. 04 | 14. 2. 06 | 3 | 536 | 1,0 | Actinomyces, Saccharomyces | Actinomyces, Saccharomyces |
| 30 | 29. 8. 04 | 14. 2. 06 | 4 | 534 | 1,45 | Actinomyces, Saccharomyces | Actinomyces, Saccharomyces |
| 31 | 30. 8. 04 | 14. 2. 06 | 2 | 533 | 1,66 | Actinomyces, Saccharomyces | Actinomyces |
| 32 | 30. 8. 04 | 14. 2. 06 | 3 | 533 | 1,66 | Actinomyces, Saccharomyces | Actinomyces, Saccharomyces |
| 33 | 30. 8. 04 | 14. 2. 06 | 2 | 533 | 3,0 | Saccharomyces, Actinomyces | Saccharomyces, Actinomyces |

Tabelle IVB. Untersuchungen der im Eisschrank aufbewahrten Butterproben.

| No. der Butterprobe | Die Butter wurde | | Alter der Butterprobe beim Kauf Tage | Die Butter war im Eisschrank Tage | 1 cm Butterfette der | | Bakteriologische Untersuchung | | Bemerkungen |
|---------------------|------------------|---------------|--------------------------------------|-----------------------------------|--|---------|---|------------------------------------|---|
| | gekauft am | untersucht am | | | inneren | äußeren | der äußeren Schicht | der inneren Schicht | |
| | | | | | Schicht verbrauchte $\frac{1}{20}$ N. NaOH ccm | | | | |
| 1 | 4. 6. 04 | 12. 2. 06 | 3 | 619 | 8,06 | 8,4 | Schimmelpilze, Kokken, Sarcina, Saccharomyces, Oidium | Sarcina Actinomyces | Dieselbe Butterprobe wie in Tafel A No. 1 |
| 2 | 15. 6. 04 | 12. 2. 06 | 3 | 608 | 11,4 | 12 | Schimmelpilze, Oidium, Kokken, Actinomyces | Actinomyces, Saccharomyces | Dieselbe Butterprobe wie in Tafel A No. 5 |
| 3 | 20. 6. 04 | 12. 2. 06 | 3 | 603 | 8,2 | 9,1 | Oidium, Sarcina, Actinomyces, | Actinomyces | Dieselbe Butterprobe wie in Tafel A No. 6 |
| 4 | 26. 6. 04 | 12. 2. 06 | 2 | 597 | 8,5 | 8,2 | Schimmelpilze, Oidium, Actinomyces, Kokken | Actinomyces, Sarcina, Kokken | Dieselbe Butterprobe wie in Tafel No. 7 |
| 5 | 4. 7. 04 | 12. 2. 06 | 3 | 588 | 5,6 | 3,1 | Schimmelpilze, Oidium, Saccharomyces, Actinomyces | Saccharomyces, Actinomyces | Dieselbe Butterprobe wie in Tafel No. 9 |
| 6 | 11. 7. 04 | 12. 2. 06 | 1 | 584 | 11,8 | 8,4 | Schimmelpilze, Oidium, Kokken, Sarcina | Oidium, Actinomyces, Saccharomyces | Dieselbe Butterprobe wie in Tafel No. 10 |

Literatur.

Anmerkung. Zum größten Teil ist neben der Angabe der Originalarbeit auch auf Referate in den bekanntesten Zeitschriften hingewiesen.

Abkürzungen.

- A. H. = Archiv f. Hygiene, München.
- A. G. A. = Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt, Berlin.
- C. B. = Centralblatt für Bakteriologie.
- H. R. = Hygienische Rundschau.
- Z. H. = Zeitschrift für Hygiene.

Die arabische Ziffer vor dem Komma bedeutet die Nummer des Bandes, die Ziffer nach dem Komma die Jahreszahl, die römischen Ziffern geben die Abteilung der betreffenden Zeitschrift an. Z. B. C. B. II 5, 99 = Centralblatt für Bakteriologie, II. Abteilung, Band 5 vom Jahre 1899.

Abba, Sulla costante presenta del Bacillus coli communis nel latte di vacca. (Orig. Annali dell' Istituto d'Igiene sperimentale della R. Università di Roma. Vol. I. Fasc. III. 1892. Ref. C. B. 14, 93.)

Abbot, The results of inoculations of milk with cultures of the Bacillus diphtheriae. (Orig. The Journal of Pathology and Bacteriology. Vol. II. 1893. Ref. C. B. 15, 94.)

Ackermann, Ueber gebrochenes Melken. (Orig. Chem. Ztg. 1901. Ref. H. R. 12, 02.)

Adametz, Untersuchungen über die niederen Pilze der Ackerkrume. (Inaug.-Dissert. 1886. Ref. C. B. 1, 87.)

- , Saccharomyces lactis, eine neue Milchzucker vergärende Hefenart. (C. B. 5, 89.)
- , Bakteriologische Untersuchungen über den Reifungsprozeß der Käse. (Orig. Zeitschrift für wissenschaftl. Landwirtschaft. 1889. Ref. C. B. 6, 89.)
- , Ueber einen Erreger der schleimigen Milch, Bacillus lactis viscosus. (Orig. Milchzeitung. 1889. Ref. C. B. 7, 90.)
- , Die Bakterien normaler und abnormaler Milch. (Orig. Oesterr. Monatsschr. f. Tierheilkunde und Tierzucht 15, 90. Ref. C. B. 8, 90.)

- Adametz**, Untersuchungen über *Bacillus lactis viscosus*, einen weitverbreiteten, milchwirtschaftlichen Schädling. (Orig. Berliner landwirtsch. Jahrbücher. 1891. Ref. C. B. 9, 91.)
- , Die bakteriologischen Errungenschaften auf dem Gebiete des Molkereiwesens. (Orig. Berliner tierärztl. Wochenschr. Bd. VIII. Ref. C. B. 11, 91.)
- und **Wilkens**, Milchwirtschaftl. Untersuchungen des tierphysiolog. Instituts der k. k. Hochschule für Bodenkultur in Wien. (Orig. Landwirtsch. Jahrbücher. 1892. Ref. C. B. 12, 92.)
- —, Ueber die Ursachen der Erreger der abnormalen Reifungsvorgänge beim Käse. Bremen (Heinsius) 1893. (Ref. C. B. 14, 93.)
- —, Kritische Beiträge über F. Baumanns Beiträge zur Erforschung der Käsereifung. (Orig. Deutsche Molkereiztg. 1893.)
- —, Ueber *Micrococcus Sornthali*. (Orig. C. B. II 1, 95.)
- —, Sind die Milchsäurebakterien oder *Thyrothrix*arten die Erreger von Reifung und Aroma beim Emmentaler Käse. (Orig. Milchztg. 1900.)
- Aderhold**, Untersuchungen über reine Hefen. (Orig. Landwirtsch. Jahrbücher. 1894. Ref. C. B. II 1, 95.)
- Almquist**, Einige Erfahrungen über Verschleppung von Typhusgift durch Milch. (Orig. Deutsche Vierteljahrsschrift für öffentliche Gesundheitspflege 21, 89. Ref. C. B. 5, 89.)
- Appel**, siehe **Backhaus**.
- Arata**, Ueber die Veränderungen, denen die flüchtigen Säuren der Butter beim Ranzigwerden derselben unterworfen sind, und über die Wirkung der ranzigen Butter auf den Organismus. (Orig. Annalen des Instituts für Experimentalhygiene in Rom. 1893. Ref. Kochs Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von Gärungsorganismen. IV.)
- Babcock und Russell**, Die Wiederherstellung der Konsistenz in pasteurisierter Milch. (Orig. Bulletin No. 54 der landw. Versuchstation von Wisconsin. Ref. C. B. II 3, 97.)
- —, Unorganized ferments of milk: a new factor in the ripening of cheese. (Orig. C. B. II 3, 97.)
- —, Einfluß des Zuckers auf die Natur der in der Milch und dem Käse vor sich gehenden Gärung. (Orig. C. B. II 9, 12.)
- Backhaus und Appel**, Ueber aseptische Milchgewinnung. (Orig. Bericht des landwirtsch. Instituts der Universität Königsberg. H. 2 u. 6. Ref. C. B. II 6, 00.)
- Baginsky**, Zur Biologie der normalen Milchkotbakterien. I. Mitt. (Orig. Zeitschr. f. physiologische Chemie. Bd. XII. Ref. C. B. 4, 88.) II. Mitt. (Orig. Zeitschrift für physiol. Chemie. Bd. VIII. Ref. C. B. 6, 89.)
- , Rote Milch. (Orig. Deutsche Medizinalztg. 1889. Ref. C. B. 5, 89.)
- , Zum Grotenfeltschen *Bacillus* der roten Milch. (Orig. Deutsche med. Wochenschr. 1889. Ref. C. B. 6, 89.)
- , Sommerdiarrhöen, Kuhmilchnahrung, Milchsterilisierung. (Orig. Berliner klinische Wochenschr. 1894. Ref. C. B. 17, 95.)
- , Noch einige Bemerkungen zur Frage der Kuhmilchnahrung und Milchsterilisierung. (Orig. Berliner klin. Wochenschr. 1895. Ref. C. B. 18, 95.)
- Baier**, Ueber Buttersäuregärung. (Orig. C. B. II 1, 95.)
- , Die Pilzflora der Milch und ihre Beziehungen zum Käsereifungsprozeß. (Orig. Milchztg. 1897. Ref. C. B. II 3, 97.)
- Barthel**, Einige Versuche über die Bildung von Essigsäure in Milch durch Essigsäurebakterien. (Orig. C. B. II 6, 00.)
- , Recherches sur les microorganismes de l'air des étables au lait au moment de la traite de la mamelle. (Orig. Revue général du lait. T. I. 02.)
- Basch und Weleminsky**, Ueber die Ausscheidung von Mikroorganismen durch die tätige Milchdrüse. (Orig. A. H. 35, 99. Ref. C. B. 26, 99.)
- , Ueber die Ausscheidung von Krankheitserregern durch die Milch. (Orig. Jahrbuch für Kinderheilkunde. 47, 98. Ref. C. B. 25, 99.)
- Basenau**, Ueber die Ausscheidung von Bakterien durch die Milchdrüse und über die sogenannten bakteriziden Eigenschaften der Milch. (Orig. A. H. 23, 95. Ref. C. B. 17, 95.)
- , Ueber das Verhalten von Cholera-Bakterien in roher Milch. (Orig. A. H. 95. Ref. C. B. 17, 95.)
- Bassenge**, Ueber das Verhalten der Typhusbacillen in der Milch und deren Produkten. (Orig. Deutsche med. Wochenschr. 1903. Ref. C. B. I 34, 04.)

- Baumann, Beiträge zur Erforschung der Käsereifung. (Orig. Z. H. 15. Ref. C. B. 15, 94.)
 — siehe Ritthausen.
 Bazarewski siehe Leichmann.
 Bay, Is the red *Torula* a genuine *Saccharomyces*? (Orig. C. B. II 2, 96.)
 Beck, Experimentelle Beiträge zur Untersuchung über die Marktmilch. (Orig. Deutsche Vierteljahrschrift für öffentliche Gesundheitspflege. 1900. Ref. C. B. 28, 00.)
 Becker, Ueber Schichtung und Färbbarkeit der Membran der Hefezellen. (Orig. Zeitschrift für das gesamte Brauwesen 22, 99. Ref. C. B. II 6, 00.)
 — siehe Popp.
 Behla, Die Sammelmolkereien als Typhusverbreiter. (Orig. Klin. Jahrbuch 10, 02. Ref. C. B. II 10, 03.)
 Behr, Ueber eine nicht mehr Farbstoff bildende Rasse des *Bacillus* der blauen Milch. (Orig. C. B. 8, 90.)
 Bendixen, Die Mikroorganismen im Molkereibetriebe. (Ref. C. B. II 3, 97.)
 Benecke, Ueber die Ursachen der Veränderungen, welche sich während des Reifungsprozesses im Emmentalerkäse vollziehen. (Ref. C. B. 1, 87.)
 Besana, Ueber das Grünwerden des Lodisaner Käses. (Orig. Jahrb. der milchwirtsch. Versuchsstation zu Lodi. 1888. Ref. Milchtztg. 17, 88.)
 Beijerinck, Zur Ernährungsphysiologie des *Kahmpilzes*. (Orig. C. B. 11, 91.)
 Beythien siehe Borisch.
 Bischoff, Ueber Eismilch. (Orig. A. H. 47, 03.)
 Bitter, Versuche über das Pasteurisieren der Milch. (Orig. Z. H. VIII. Ref. C. B. 8, 90.)
 Bleisch, Ueber bittere Milch und die Sterilisierung der Milch durch Erhitzen unter Luftabschluß. (Orig. Z. H. 13, 93.)
 Bloch, Ueber den Bakteriengehalt von Milchprodukten und anderen Nahrungsmitteln. (Orig. Berliner klin. Wochenschrift. Ref. C. B. 27, 00.)
 Bochicchio, Ueber einen Milchzucker vergärenden und Käseblähungen hervorrufenden neuen Hefepilz. (Orig. C. B. 15, 94.)
 Boekhout und de Vries, Ueber eine die Gelatine verflüssigende Milchsäurebakterie. (Orig. C. B. II 12, 04.)
 —, Influence de l'aération dans la fermentation lactique. (Rev. génér. du lait. III, 04.)
 Böttinger, Studien über Hefe. (Orig. Chem. Ztg. 1899. Ref. C. B. II 6, 00.)
 Borisch und Beythien, Ueber den Schmutzgehalt der Milch. (Orig. Zeitschrift f. Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel. 1900. Ref. H. R. 11, 01.)
 Bokorny, Einige vergleichende Bemerkungen über die spontane und die durch Lab bewirkte Milchgerinnung. Milchsäureferment und Labferment. (Orig. Chem. Ztg. 1901. Ref. H. R. 11, 01.)
 Bolley, Ueber die Konstanz von Bakterienarten in normaler Rohmilch. (C. B. II 1, 95.)
 — und Hall, Cheese curd inflation: Its relation to the bacterial flora of fore milk. (Orig. C. B. II 1, 95.)
 —, Influence de l'aération dans la fermentation lactique. (Rev. générale du lait III, 04.)
 — und Field, *Bacillus typhi abdominalis* in milk and butter. (Orig. C. B. II 4, 98.)
 Botkin, Ueber einen *Bacillus butyricus*. (Orig. Z. H. 11, 92.)
 Brassien, Sur les modifications que le fromage subit en vieillissant. (Orig. Ann. des chim. et phys. 4^{me} S. T. V. 1865.)
 Bremer, Die fettverzehrenden Organismen in Nahrungs- und Genußmitteln. (Inaug.-Dissert. Würzburg. 1902. Ref. C. B. II 10, 03.)
 Bruger und Ehrlich, Ueber die Uebertragung von Immunität durch Milch. (Orig. Deutsche med. Wochenschr. 1892. Ref. C. B. 12, 92.)
 — und Cohn, Beiträge zur Konzentrierung der gegen Wundstarrkrampf schützenden Substanz aus der Milch. (Orig. Z. H. 15. Ref. C. B. 15, 94.)
 Bruck, Experimentelle Beiträge zur Frage der Typhusverbreitung durch Butter. (Orig. Deutsche med. Wochenschr. 1903. Ref. C. B. R. I 34, 04.)
 Budenoff siehe Severin.
 Burr, The source of the acid organisms of milk and cream. (Orig. C. B. II 8, 02.)
 Burri, Die Bakterienvegetation auf der Oberfläche normal entwickelter Pflanzen. (Orig. C. B. II 10, 03.)
 Burstert und Herz, Rote Käse. (Orig. Mitteilung des milchwirtschaftl. Vereins im Allgäu. 1895. No. 6.)
 Busse, Die Hefen als Krankheitserreger. Berlin (Hirschwald) 1887. Ref. C. B. 22, 97.)
 Campbete, M., Ueber einen in der Milch gefundenen *Bacillus*. (Orig. Deutsche med. Wochenschr. 1898. Ref. C. B. 25, 99.)

- Casagrandi, Ueber die Morphologie der Blastomyceten. (Orig. C. B. II 3, 87.)
- , Der *Saccharomyces ruber*. (Orig. Annali d'igiene sperim. Vol. VIII. Ref. C. B. 24, 98.)
- , Ueber die Differentialdiagnose der Blastomyceten. (Orig. Annali d'igiene sperim. Vol. VIII. Ref. C. B. 24, 98.)
- Cazeneuve et Haddon, Sur les causes de la coloration et de la coagulation du lait par le chaleur. (Orig. Comptes rendus de l'academie des sciences. Paris. 120, 95.)
- Chalmers, The sources of milk impurities. (Sanit. Journ. Glasgow 1900.)
- Cnopf, Quantitative Spaltpilzuntersuchungen in der Kuhmilch. (Orig. Tageblatt der 62. Vers. Deutscher Naturforscher und Aerzte in Heidelberg. 1899. Ref. C. B. 6, 89.)
- Cohn siehe Brieger.
- Conn, Ueber einen bittere Milch erzeugenden Micrococcus. (Orig. C. B. 9, 91.)
- , Isolierung eines „Lab“-ferments aus Bakterienkulturen. (Orig. C. B. 12, 92.)
- , Bacteria in the dairy. (Orig. III. annual report of the Storr's school, agricultural exper. station. 1891. Ref. C. B. 10, 92.)
- , Bacteria in the dairy. The isolation of remed from bacteria cultures. (Orig. V. annual report of the Storr's school agricultural of the experim. station. 1892. Ref. C. B. 16, 94.)
- , The ripening of cream by artificial bacteria cultures. (Orig. Storrs school agr. exp. st. Bulletin. 1894. Ref. C. B. 16, 94.)
- , Bacteria in the dairy. (Orig. VII. annual report of the Storr's school agric. exp. stat. Ref. C. B. II 1, 95.)
- , Cream ripening with *Bacillus* No. 41. (Orig. C. B. II 1, 95.)
- , The relation of pure cultures to the acid, flavor and aroma of butter. (Orig. C. B. II 2, 96.)
- , Butter aroma. (Orig. C. B. II 3, 97.)
- , Variability in the power of liquefying gelatine possessed by milk bacteria. (Orig. C. B. II 5, 99.)
- and Esten, The ripening of cream. (Orig. C. B. II 7, 01.)
- , Vergleichung des Wachstums der Bakterien in der Milch. (3. Vers. der amerikan. bakteriolog. Gesellsch. 1901. Ref. C. B. II 8, 02.)
- Connell, Bakterien und Milchwirtschaft. (Orig. Annual reports of the province of Ontario. 1897. Ref. C. B. II 5, 99.)
- Cunningham, D., Die Milch als Nährmedium für Cholera-kommatbacillen. (Orig. A. H. 12, 91. Ref. C. B. 11, 91.)
- Dammann, Ein Fall von bitterer Milch und dessen Beseitigung. (Orig. Deutsche tierärztl. Wochenschr. 5, 97. Ref. C. B. II 3, 97.)
- Demme, Ueber das Vorkommen eines roten Sproßpilzes in der Milch und im Käse und das Auftreten von Darmkatarrh bei Kindern frühesten Alters durch den Genuß derartig infizierter roher oder unvollständig gekochter Milch. (Orig. Pädiatrische Arbeiten. Festschrift. 1890. Ref. C. B. 9, 91.)
- Deycke und Voigtländer, Studien über kulturelle Nährböden. (Orig. C. B. 29, 01.)
- Dokkum, Ueber giftige Bestandteile von faulendem Käse. (Orig. Chem. Centralblatt. 1894. II. p. 485.)
- Dombrowsky, Einige Versuche über den Uebergang von Riech- und Farbstoffen in die Milch. (Orig. A. H. 50, 04.)
- Dreyer siehe Dunbar.
- Duclaux, Deuxieme mémoire sur le lait. (Orig. Annales de l'Institut national agronomique. T. VIII. 1883.)
- , Le lait. Etudes chimiques et microbiologiques. Paris (Baillièrre et fils) 1887.
- , Principes de laiterie. (A. Cohn & Co.) 1893.
- , Action de la présure sur le lait. (Orig. Comptes rendus de l'Academie de sciences Paris. 98, 84.)
- Dunbar and Dreyer, Untersuchungen über das Verhalten der Milchbakterien im Milchthermophor. (Orig. Deutsche med. Wochenschr. 1900. Ref. C. B. 7, 01.)
- Du Roi, Ueber die Erhitzung der Vollmilch oder deren Nebenprodukte in den Sammelmolkereien. (Orig. Zeitschr. für Fleisch- und Milchhygiene. 1900. H. 12. Ref. C. B. II 7, 01.)
- , Erfahrungen über die Anwendung des Pasteurisierverfahrens zur Bekämpfung von Butterfehlern. (Orig. Milchzeitung. J. 29. No. 9.)
- Eckles, The relation of certain bacteria to the production of butter. (Orig. C. B. II 4, 98.)
- , A comparison of media for the quantitative estimation of bacteria in milk. (Orig. Proc. Ja. Acad. of Sc. Vol. VIII. Ref. C. B. II 9, 02.)

- Eckles, A method of isolating and counting gas-producing bacteria in milk. (Orig. Proc. Ja. Acad. of Sc. Vol. VIII. Ref. C. B. II 9, 02.)
Ehrlich siehe Brieger.
Eichholz, Ueber ein neues Bakterium der „seifigen Milch“ (Bacterium sapolacticum). (Orig. C. B. II 9, 02.)
—, Erdbeerbacillus (Bacterium Fragi). (Orig. C. B. II 9, 02.)
—, Untersuchungen über die Ursachen des Ranzigwerdens der Butter. (Inaug.-Dissert. Berlin. 1901. Ref. C. B. II 10, 03.)
Ekholm, Zur Scharlachübertragung durch Milch. (Orig. Zeitschr. für klin. Medizin. 49, 03. Ref. C. B. R. I 34, 04.)
Elion, Studien über Hefe. (Orig. C. B. 14, 93.)
Emmerling, Ueber Spaltpilzgärungen. (Orig. Bericht d. deutsch. chem. Ges. 1900. Ref. H. R. 11, 01.)
Epstein, Untersuchungen über Milchsäuregärung und ihre praktische Verwertung. (Orig. A. H. 37, 00.)
—, Untersuchung über die Reifung von Weichkäsen. (Orig. A. H. 43, 02. 45, 02.)
Ernst, Infectiousness of milk. Boston 1895. (Ref. C. B. 17, 95.)
Esten siehe Conn.
Eyre, On the presence of members of the diphtheric group of bacilli other than the Keebs-Löffler bacillus in milk. (Orig. British med. Journal. No. 2068. 1900. Ref. H. R. 11, 01.)
Farrington und Russel, Anwendung der Pasteurisierung für die Butterbereitung. (Orig. Bull. University of Wisconsin Agricultural Exper. Station Madison. 1898. Ref. C. B. II 5, 99.)
Field siehe Bolley.
Fiorintini, Ricerche sperimentali cul latte di Milano fatte in rapporto all'igiene alimentare. (Orig. Atti dell'Associazione medica Lombarda. 1895. Ref. C. B. 20, 96.)
Fischer, Ueber einen neuen bei Kahmhauptpilzen beobachteten Fortpflanzungsmodus. (Orig. C. B. 14, 93.)
Fokker, Ueber das Milchsäureferment. (Orig. Fortschr. Mediz. 1889. Ref. C. B. 6, 89.)
—, Ueber die bakterienvernichtenden Eigenschaften der Milch. (Orig. Fortschr. Med. Bd. VIII. Ref. C. B. 7, 90.)
—, Ueber bakterienvernichtende Eigenschaften des Milch. (Orig. Z. H. 9, 90.)
—, Die Entstehung von Milchsäurebacillen aus Granula. (Orig. Deutsche med. Wochenschrift. 1901. Ref. C. B. II 8, 02.)
—, Zur Alexinfrage. (Orig. C. B. 31, 02.)
Fränkel und Kister, Ueber Typhusbacillen in Buttermilch. (Orig. Münchener med. Wochenschr. 1898. Ref. C. B. 23, 98.)
Freemann, Milk as an agency in the conveyance of disease. (Orig. Medical Record. 1896. Ref. C. B. 20, 96.)
—, Pasteurisieren der Milch bei niederer Temperatur. (Orig. Archives of Paediatrics. Ref. C. B. II 3, 97.)
Freudenreich, De la teneur du lait en bactéries. (Orig. Annales de micrographie. T. II. 1890.)
—, Recherches préliminaires sur le rôle des bactéries dans la maturation du fromage d'Emmental. (Orig. Annales de micrographie. T. II. 1890.)
—, Ueber einen neuen in geblähtem Käse gefundenen Bacillus (B. Schafferi). (Orig. Landw. Jahrbuch der Schweiz. 4, 90.)
—, Sur quelques bactéries produisant le boursoufflement des fromages. (Orig. Annales de micrographie. T. II. 1890. Ref. C. B. 8, 90.)
— und Schaffer, Ueber den Einfluß des Luftabschlusses auf die Reifung des Emmentaler Käses. (Orig. Landw. Jahrbuch der Schweiz. 6, 02.)
—, Ueber einige Versuche, die Blähung der Käse zu verhindern. (Orig. Landw. Jahrbuch der Schweiz. 7, 93.)
—, Ueber den jetzigen Stand der bakteriologischen Forschung auf dem Gebiete des Käsereifungsprozesses. (Orig. C. B. II 1, 95.)
—, Bakteriologische Untersuchungen über den Reifungsprozess des Emmentaler Käses. (Orig. Landw. Jahrbuch der Schweiz. 8, 94. Ref. C. B. II 1, 95.)
—, Ueber den Einfluß der bei dem Nachwärmen des Käses angewandten Temperatur auf die Bakterienzahl in der Milch und im Käse. (Orig. Landw. Jahrb. d. Schweiz. 9, 95. Ref. C. B. II 1, 95.)
—, Die Bakteriologie in der Milchwirtschaft. 1893. (Ref. C. B. 15, 95.)
—, Beitrag zur Ursachen des bitteren Käses und der bitteren Milch. (Orig. Landw. Jahrbuch der Schweiz. Bd. VIII. Ref. C. B. II 1, 95.)

- Freudenreich, Bemerkungen zu Dr. Weigmanns Mitteilungen über den jetzigen Stand der bakteriologischen Forschung auf dem Gebiete des Käseerigungsprozesses. (Orig. C. B. 2, 96.)
- , Bakteriologische Untersuchungen über den Kefir. (Orig. C. B. II 3, 97.)
- , Ueber das Vorkommen von Bakterien im Kuheuter. (Orig. C. B. II 10, 03.)
- und Thöni, Ueber die in der normalen Milch vorkommenden Bakterien und ihre Beziehungen zu dem Käseerigungsprozeß. (Orig. C. B. 10, 03.)
- , Ueber das Vorkommen der streng anaëroben Buttersäurebacillen und über andere Anaërobenarten bei Hartkäsen. (Orig. C. B. II 11, 04.)
- siehe Lang.
- siehe Wüthrich.
- Fuchs, Beiträge zur näheren Kenntnis der gesunden und fehlerhaften Milch der Haustiere. (Guolt und Hertwigs Magazin für die gesamte Tierheilkunde. Berlin. 1841.)
- Fürst, Reform des Molkereiwesens. (Verhandl. der deutschen Gesellschaft für öffentl. Gesundheitspflege. Sitzung vom 6. Nov. 1899. Ref. H. R. 10, 00.)
- Erstmann, Ueber die Ursache der Gerinnung der Milch bei Gewittern. (Orig. Elektrot. Zeitschr. 3, 96.)
- Gessard, De la pyocyanie et de son microbe. (These de Paris. 1882.)
- , Nouvelles recherches sur le microbe pyocyanique. (Orig. Annales de l'Institut Pasteur. 4, 90. Ref. C. B. 7, 90.)
- , Des paces du bacille pyocyanique. (Orig. Annales de l'Institut Pasteur. 5, 91. Ref. C. B. 9, 91.)
- , Fonctions et races du bacille cyanogène (microbe du lait bleu). (Orig. Annales de l'Institut Pasteur. 5, 91. Ref. C. B. 11, 92.)
- , Sur la fonction fluorescigène des microbes. (Orig. Annales de l'Institut Pasteur. 6, 92. Ref. C. B. 14, 93.)
- Geuns, Ueber die Einwirkung des sogenannten Pasteurisierens auf die Milch. (Orig. A. H. 3, 86.)
- , Ueber das Pasteurisieren von Bakterien. (Orig. A. H. 9, 89.)
- Gillet, Existe-t-il un lipase dans le lait? (Orig. Journal de physiolog. et de pathol. générale. V. 3, 03. Ref. C. B. II 11, 04.)
- Girardin, Note pour servir à l'étude du lait. (Orig. Comptes rendus de l'Académie des sciences. Paris. 36, 53.)
- Globig, Ueber Bakterienwachstum bei 50° bis 70°. (Orig. Z. H. 3, 88.)
- Gordon siehe Klein.
- Gorini, Studi sperimentali sul latte. (Orig. Rivista d'igiene e san. publ. 1892. Ref. C. B. 12, 92.)
- , La sterilizzazione del latte nei bambini confronto fra vari sistemi di chiudere le bottiglie. (Orig. Rivista int. d'Igiene. Vol. VI. 1895. Ref. C. B. 20, 96.)
- , Ueber die säure-labbildenden Bakterien der Milch. (Orig. C. B. II 8, 02.)
- Grassberger und Schattenfroh, Ueber Buttersäuregärung. (Orig. A. H. 2, 02. Ref. C. B. II 9, 02.)
- siehe Schattenfroh.
- Grimm, Morphologisch-physiolog. Untersuchungen über verschiedene Oidium lactis-Arten. (Orig. Bericht des landw. bakteriolog. Laborat. am Ministerium der Agrikultur zu St. Petersburg. 1900. Ref. C. B. II 9, 02.)
- , Ueber einen neuen aromabildenden Bacillus, nebst einigen Bemerkungen über Reinkulturen für Exportbutter. (Orig. C. B. II 8, 02.)
- Grippenberg, Untersuchungen über Schimmelbildung bei Lagerbutter. (Orig. Milchzeitung. 1899.)
- Grottenfelt, Studien über die Zersetzungen der Milch. (Orig. Fortschr. der Medizin. 1889. Ref. C. B. 5, 89.)
- Gruber, Die Arten der Gattung Sarcina. (Orig. Arbeiten aus dem bakteriolog. Institut der Techn. Hochschule zu Karlsruhe. Bd. I. 1895. Ref. C. B. II 1, 95.)
- , Ueber einen die Milch rosa färbenden Bacillus (*Bacillus lactorubefaciens*). (Orig. C. B. II 8, 02.)
- , Die Ursachen des Rübengeschmacks und Rübengeruchs in der Milch und Butter. (Orig. Deutsche landw. Presse. 1902. Ref. C. B. II 9, 02.)
- , *Pseudomonas Fragariae*, eine Erdbeergeruch erzeugende Bakterie. (Orig. C. B. II 9, 02.)
- , Beitrag zur Kenntnis der Erreger der schleimigen und fadenziehenden Milch und Charakterisierung des *Coccus lactis viscosi*. (Orig. C. B. II 9, 02.)
- Günther und Thierfelder, Bakteriologische und chemische Untersuchungen über die spontane Milchgerinnung. (Orig. A. H. 25, 95.)
- Guillebeau, Beiträge zur Lehre von den Ursachen der fadenziehenden Milch. (Orig. Landw. Jahrbuch der Schweiz. 1891. Ref. C. B. 11, 91.)

- Guilebeau**, Studien über Milchfehler und Euterentzündungen bei Rindern und Ziegen. (Orig. Landw. Jahrbuch. Bd. IV. Ref. C. B. 12, 92.)
- Haan und Huyse**, Die Koagulation der Milch durch Cholerabakterien. (Orig. C. B. 15, 94.)
- Haddon** siehe **Cazeneuve**.
- Hall** siehe **Bolley**.
- Hammarsten**, Ueber die Milchgerinnung und die dabei wirkenden Fermente der Magenschleimhaut. (Orig. Upsalas läkareförenings förhandlingar. 8, 72. Ref. Malys Jahresbericht für Tierchemie. 2, 72.)
- Hansen**, Ueber Hefe und Hefereinzucht. (Orig. Zeitschrift für Bierbrauerei und Malzfabrikation. 1887. Ref. C. B. 2, 87.)
- , Ueber rot und schwarz gefärbte Sproßpilze. (Orig. Allg. Brauer- und Hopfenzeitung. 1887. Ref. C. B. 3, 88.)
- , Die Verflüssigung der Gelatine durch Schimmelpilze. (Orig. Flora. 1889. Ref. C. B. 8, 90.)
- , Nouvelles recherches sur la circulation du *Saccharomyces epiculatus* dans la nature. (Orig. Annales des sciences naturelles. T. XI. 1890. Ref. C. B. 8, 90.)
- , Sur la production de variétés chez le *Saccharomyces*. (Orig. Annales de micrographie. T. II. Ref. C. B. 7, 90.)
- , Kritische Untersuchungen über einige von Ludwig und Brefeld beschriebene Oidium- und Hefenformen. (Orig. Botan. Ztg. 1892. Ref. C. B. 12, 92.)
- , Sur la germination des spores chez les *Saccharomyces*. (Orig. Comptes rendus des travaux du laborat. de Carlsberg. T. III. Ref. C. B. 13, 93.)
- , Neue Untersuchungen über den Kreislauf der Hefenarten in der Natur. (Orig. C. B. II 10, 03.)
- , Grundlinien zur Systematik der Saccharomyceten. (Orig. C. B. II 12, 04.)
- Hanus**, Einige Beiträge zur Frage des Ranzigwerdens der Butter. (Orig. Zeitschr. für Unters. der Nahrungs- und Genußmittel. 1900. Ref. H. R. 11, 01.)
- und **Stocky**, Ueber die chemische Einwirkung des Schimmelpilze auf die Butter. (Orig. Zeitschr. f. d. Unters. der Nahrungs- und Genußmittel. Jahrg. III. H. 9. Ref. C. B. 7, 01.)
- Happich**, Ueber die Ansäuerung des Rahms mit Reinkulturen. (Orig. Balt. Wochenschrift für Landwirtschaft etc. 1901.)
- , Ueber Milchbakterien. (Orig. Fortschr. der Veterinärhygiene. Jahrg. I. H. 4. Ref. C. B. II 11, 04.)
- Harrevelt** siehe **Lameris**.
- Harrison**, Machine-drawn Milk versus Hand-drawn Milk. (Orig. C. B. II 5, 99.)
- , Bitter milk and cheese. (Orig. C. B. II 9, 02.)
- , A comparative study of sixty-six varieties of gas producing bacteria found in milk. (Orig. C. B. II 14, 05.)
- Harry** siehe **Hayward**.
- Hashimoto**, Zwei neue milchsäurebildende Kugelbakterien. (Orig. H. R. 11, 01. Ref. C. B. II 8, 02.)
- Hastings** siehe **Russel**.
- Haubner**, Ueber die fehlerhafte Beschaffenheit der Kuhmilch im allgemeinen und die blaue Milch insbesondere. (Orig. Magazin f. d. ges. Tierheilkunde. Berlin 1852.)
- Hayward**, **Harry** and **McDonnel**, Im Handel vorkommende Butterkulturen. (Orig. Pennsylvania State College, Agric. Exp. Station. 1899. Ref. C. B. II 5, 99.)
- Hefferan**, A comparative and experimental study of bacilli producing red pigment. (Orig. C. B. II 11, 04.)
- Hehle**, Ueber das Blauwerden der Käse. (Orig. Molkereiztg. 1896. Ref. C. B. II 3, 97.)
- Heim**, Ueber das Verhalten der Krankheitserreger der Cholera, des Unterleibstypus und der Tuberkulose in Milch, Butter, Molken und Käse. (Orig. Arb. aus d. Kais. Gesundh.-Amte 5, 89. Ref. C. B. 7, 90.)
- , Versuche über blaue Milch. (Orig. Arb. a. d. Kais. Gesundh.-Amte 5, 89. Ref. C. B. 8, 90.)
- , Ueber die Bedeutung der Bakteriologie in der Lebensmittelkontrolle. (Orig. Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. 1900.)
- Hellens**, Studien über die Marktmilch von Helsingfors mit besonderer Hinsicht auf den Bakteriengehalt derselben. (Inaug.-Dissert. Helsingfors. 1899. Ref. C. B. II. 6, 99.)
- Hellström**, Ueber Tub.-Nachweis in Butter und einige vergleichende Untersuchungen über pathogene Keime in Butter aus pasteurisiertem und nicht pasteurisiertem Rahm. (Orig. C. B. 28, 00.)
- Helm**, Gewinnung und Absatz von frischer tuberkelfreier Trinkmilch (Eismilch). (Orig. Deutsche Vierteljahrsschr. für öffentl. Gesundheitspflege. 22, 00. Ref. C. B. 29, 00.)

- Henneberg, Zur Kenntnis der Milchsäurebakterien der Brenneimaische, der Milch und des Bieres. (Orig. Wochenschr. f. Brauereien. 18, 01. Ref. C. B. II 8, 02.)
- , Zur Kenntnis der Milchsäurebakterien der Braueimaische, der Milch, des Bieres, der Preßhefe, der Melasse, des Sauerkohls, der sauren Gurken und des Sauerteigs, sowie einige Bemerkungen über die Milchsäurebakterien des menschlichen Magens. (Orig. Zeitschr. f. Spiritusindustrie. Jg. XXVI. No. 22—31. Ref. C. B. II 11, 04.)
- Henrici, Beiträge zur Bakteriologie des Käses. (Inaug.-Dissert. Basel. 1894. Ref. C. B. II 1, 95.)
- , Beitrag zur Bakterienflora des Käses. (Orig. Arbeit. a. d. bakt. Institut d. Techn. Hochschule zu Karlsruhe. Ref. C. B. II 1, 95.)
- Henseval, Les microbes du lait et l'examen bacteriologique du lait stérilisé. (Memor. hygién. 1900.)
- Herz, Die Bedeutung der Bakteriologie für die Käsebereitung. (Orig. Zeitschr. für die ges. Milchwirtschaft des bayr. Allgäus. 1894. Ref. C. B. 16, 94.)
- , siehe Burstert.
- Hesse, Unsere Nahrungsmittel als Nährböden für Typhus und Cholera. (Orig. Z. H. 5. Ref. C. B. 5, 89.)
- , Ueber Milchsterilisierung im Großbetriebe. (Orig. Z. H. 13, 93.)
- , Ueber die Beziehungen zwischen Kuhmilch und Cholerabacillus. (Orig. Mitteilung aus dem XI. internationalen mediz. Kongreß in Rom. Ref. C. B. 15, 94.)
- , Ueber die Beziehung zwischen Kuhmilch und Cholerabacillen. (Orig. Z. H. 17, 94. Ref. C. B. 16, 94.)
- , Ueber das Verhalten pathogener Mikroorganismen in pasteurisierter Milch. (Orig. Z. H. 34, 00.)
- Hewlest, siehe Macfadyen.
- Hoffmann, Bakterien und Hefen in der Praxis des Landwirtschaftsbetriebs. Berlin 1899. (Ref. C. B. II 5, 99.)
- Holst, Beobachtungen über Käsevergiftungen. (Orig. C. B. 20, 96.)
- Hüppe, Untersuchungen über die Zersetzungen der Milch durch Mikroorganismen. (Orig. Mitteilungen a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. 2, 84.)
- , Ueber Milchsterilisierung und über bittere Milch mit besonderer Rücksicht auf die Kinderernährung. (Orig. Berliner klin. Wochenschr. 1891.)
- Huizenga siehe Wibbens.
- Huyse siehe Haan.
- Jakobsthal, Die Fettbildung bei der Reifung des Käses. (Orig. Pflügers Archiv 54, 93.)
- Jensen, Studien über die Lochbildung in den Emmentaler Käsen. (Orig. C. B. II 4, 98.)
- , Studien über die Enzyme im Käse. (Orig. C. B. 6, 00.)
- , Studien über das Ranzigwerden der Butter. (Orig. C. B. II 8, 02.)
- , Bakteriologische Untersögelser over visse Mälke og Smörfeil. (Orig. 22^{de} Beretning fra den Kgl. Veterin og Landbohøjskoles Laboratorium for landøkonomiske Forsög. Kjøbenhavn 1891. (Ref. C. B. 11, 91.)
- Inghilleri, Ueber das Verhalten des Milzbrandbacillus in unsterilisierter Milch. (Orig. Mitteilungen aus dem XI. internationalen mediz. Kongreß in Rom. (Ref. C. B. 15, 94.)
- Johann-Olsen, Die bei der Käsereifung wirksamen Pilze. (Orig. C. B. II 4, 98.)
- Kahrhel, Ueber das Ferment der Milchsäuregärung in der Milch. (Orig. Allgem. Wiener mediz. Zeitung. 1889. Ref. C. B. 7, 90.)
- Kalischer, Zur Biologie der peptonisierenden Milchbakterien. (Orig. A. H. 37, 00. Ref. C. B. II 6, 00.)
- Kedcowski, Ueber zwei Buttersäure produzierende Bakterienarten. (Orig. Z. H. 16, 94. Ref. C. B. 16, 94.)
- Keferstein, Ein neuer farbstoffbildender Mikrocooccus aus roter Milch. (Orig. C. B. 21, 97.)
- Kerry und Fränkel, Bemerkungen zur Publikation des Herrn Dr. Botkin „Ueber einen neuen Bacillus butyricus“. (Orig. Z. H. 12, 92.)
- Ketscher, De l'immunité contre le choléra conférée par le lait. (Comptes rendus des sciences de la Société de Biologie. 1892. Ref. C. B. 13, 93.)
- Kirsten, Untersuchungen über die Abnahme des Säuregrades der Milch. (Orig. Zeitschr. f. Unters. von Nahrungs- u. Genußmitteln. Bd. V. 1902. Ref. C. B. II 10, 03.)
- Kister siehe Fränkel.
- Kitasato, Das Verhalten der Cholerabakterien in der Milch. (Orig. Z. H. 5, 89. Ref. C. B. 5, 89.)

- Klecki, Ueber einige aus ranziger Butter isolierte Mikroorganismen. (Orig. C. B. 15, 94.)
- , Ein neuer Buttersäure-Gärungserreger (*Bacillus saccharobutyricus*) und dessen Beziehungen zur Reifung und Lochung des Quargelkäses. (Orig. C. B. II 2, 96.)
- Klein, Ein weiterer Beitrag zur Aetiologie der Diphtherie. (Orig. C. B. 7, 90.)
- , Die Morphologie des *Bac. enteritidis sporogenes*, seine Beziehungen zur Kinderdiarrhöe und zur Cholera nostras, sowie sein Vorkommen in Milch, Jauche und Dünger. (Orig. 27. annual report of the local government board 1897—1898. Ref. C. B. 25, 99.)
- , Pathogenic microbes in milk. (Orig. Journ. of Hygiene. Vol. I. 1901.)
- und Gordon, Ueber die Herkunft einer Rosahefe. (Orig. C. B. I 35, 04.)
- , Ueber die Verbreitung des *Bacillus enteritidis* Gärtner in der Kuhmilch. (Orig. C. B. 38, 05.)
- Klimmer, Ziele und Wege der Milchhygiene. (Orig. Arch. f. wissensch. u. prakt. Tierheilk. 1900. H. 6. Ref. C. B. II 7, 01.)
- Knochenstierna, Ueber den Keimgehalt der Dorpater Marktmilch nebst einigen bakteriolog. Untersuchungen von Frauenmilch. (Inaug.-Dissert. Dorpat. 1893. Ref. C. B. 15, 94.)
- Köster, Ueber einen Milchfehler, seine Ursachen und seine Beseitigung. (Orig. Mitteilungen des landw. Instituts der Univers. Leipzig. Herausgeg. von Kirchner. 1897. Ref. C. B. II 3, 97.)
- Kozai, Beiträge zur Kenntnis der spontanen Milchgerinnung. (Orig. Z. H. 31, 99. Ref. C. B. II 5, 99.)
- , Weitere Beiträge zur Kenntnis der natürlichen Milchgerinnung. (Orig. Z. H. 38, 01.)
- Kraus, Ueber Antikörper in der Milch. (Orig. C. B. 21, 97.)
- Krüger, Bakteriologisch-chemische Untersuchung käsigter Butter. (Orig. C. B. 7, 90.)
- , Beitrag zum Vorkommen pyogener Bakterien in der Milch. (Orig. C. B. 7, 90.)
- , Ueber bittere Milch. (Orig. Molkereizeitung. 1890.)
- Lafar, Bakteriologische Studien über Butter. (Orig. A. H. 13, 91. Ref. C. B. 12, 92.)
- , Ueber die vermeintliche Identität von *Bacillus butyrifluorescens* und *Bacillus melochloros*. (Or. C. B. 13, 93.)
- , Technische Mykologie.
- Lamerist und van Harrevelt, Bakterienbefund in Kuhmilch nach abgeheilter Mastitis. (Orig. Zeitschr. f. Fl. u. Milchhygiene. 1901. Ref. C. B. 30, 01.)
- Lang und Freudenreich, Ueber *Oidium lactis*. (Orig. Landwirtsch. Jahrbuch. Bd. VII. 1893. Ref. C. B. 16, 94.)
- Laser, Ueber das Verhalten von Typhusbacillen, Cholera-bakterien und Tub. in der Butter. (Orig. Z. H. 10, 91. Ref. C. B. 11, 91.)
- Laxa, Ueber die Spaltung des Butterfettes durch Mikroorganismen. (Orig. A. H. 41, 02.)
- Leichmann, Ueber eine schleimige Gärung der Milch. (Orig. Landw. Versuchstation 43. V. Ref. C. B. 16, 94.)
- , Ueber die freiwillige Säuerung der Milch. (Orig. Milchzeitung 1894. Ref. C. B. II 16, 94.)
- , Die Benennung der Milchsäurebacillen. (Orig. Zeitschr. f. Spiritusind. Jahrg. XIX, 96. Ref. C. B. II 2, 96.)
- , Ueber die freiwillige Säuerung der Milch. (Orig. C. B. II 2, 96.)
- , Ueber die Beteiligung des *Bacillus lactis aerogenes* an der freiwilligen Säuerung der Milch. (Orig. C. B. II 5, 99.)
- und Bazarewski, Ueber einige in reifen Käsen gefundene Milchsäurebakterien. (Orig. C. B. II 6, 00.)
- Leufvæn, Einfluß der Melkung auf den Bakteriengehalt der Milch. (Orig. Redogörelse för verksamheten vid Ultuna landbruksinstitut ar 1894.)
- Lendes siehe Wurtz.
- Levy, Ueber spontane Milchgerinnung und die biologische Bedeutung der Gerinnungsprozesse. (Vortrag auf der 60. Vers. deutscher Naturforscher u. Aerzte in Wiesbaden 1887. Ref. C. B. 3, 88.)
- Lewis, Bacteriology of milk. (Orig. Bulletin Oklahoma agricultural experim. station. 1899. Ref. C. B. 5, 99.)
- Liebig, Ueber die Ursachen des raschen Gerinnens der Milch und die Mittel, dasselbe zu verhindern. (Inaug. Dissert. Heidelberg. 1890.)
- Lindner, Ueber rot und schwarz gefärbte Sproßpilze. (Orig. Wochenschrift für Brauereien. 1887. Ref. C. B. 3, 88.)
- , Das Wachstum der Hefen auf festen Nährböden. (Orig. Wochenschrift für Brauereien. 1893. Ref. C. B. 14, 93.)

- Lloyd, Observations on Cheddar-cheese-making. (Orig. Reports for 1891, 1892 a, 1893.)
- Löffler, Bakterien in der Milch. (Orig. Berliner klin. Wochenschrift. 1887. Ref. C. B. 2, 87.)
- Lübbert, Ueber die Natur der Giftwirkung peptonisierender Bakterien der Milch. (Orig. Z. H. 22, 96.)
- Lux, Ueber den Gehalt der frisch gemolkene Milch an Bakterien. (Orig. C. B. II 9, 04.)
- Mac Donnell, Milton, Earle, Ueber Milchsäurebakterien. (Inaug.-Diss. Kiel. 1899. Ref. C. B. II 6, 00. Ref. C. B. 20, 96.)
- Mac Donnell siehe Hayward.
- Macfadyen and Hervlest, The sterilisation of milk. (Ref. vom British Institute of preventive medicine London. C. B. I 23, 98.)
- Maffucci et Sirleo, Neuer Beitrag zur Pathologie eines Blastomyceten. (Orig. C. f. allg. Pathologie und patholog. Anatomie 6, 95. Ref. C. B. 18, 95.)
- Maggiore, Ueber die Zusammensetzung des überreifen Käses. (Orig. A. H. 14, 92.)
- Manetti et Musso, Ueber die Zusammensetzung und Reife des Parmesankäses. (Orig. Deutsche landw. Versuchstat. 21, 28.)
- Marpmann, Käsegärung und Käsepilze. (Orig. Pharmaz. Centralhalle. 34, 93.)
- , Beiträge zur Käseflora. (Orig. Zeitschr. für angewandte Mikroskopie. Bd. II. 1896. Ref. C. B. II 2, 96.)
- Marshall, The aëration of milk. (Orig. C. B. II 9, 02.)
- , A preliminary note on the associative action of bacteria in the souring of milk. (Orig. C. B. II 11, 04.)
- , Additional work upon the associative action of bacteria in the souring of milk. (Orig. C. B. II 12, 04.)
- Martiny, Herbstliche Butterfehler. (Orig. Molkereizeitung 1886. Ref. C. B. II 2, 96.)
- , Die Milch, ihr Wesen und ihre Verwertung. 2 Bände. Danzig. (Kafemann) 1841. (Mit ca. 1300 Literaturnachweisungen.)
- , Das Verarbeiten erhitzter Milch. (Zeitschr. f. FL und Milchhygiene. 3, 93.)
- Mayer, Studien über Milchsäuregärung. (Orig. Zeitschr. f. Spiritusindustrie. 14, 91. Ref. C. B. 12, 92.)
- Meissner, Zur Morphologie und Physiologie der Kahlhefen und der Kahlhautbildenden Saccharomyceten. (Orig. C. B. II 8, 02.)
- Menge, Ueber rote Milch. (Orig. C. B. 6, 89.)
- Michaelis, Neuere Untersuchungen über Sahne, Milchsterilisierung, Tuberkelbacillen in Marktbutter u. s. w. (Orig. Therapeut. Monatsschr. 1900.)
- Migula, Ein Beitrag zur Milchsterilisierung. (Orig. Deutsche tierärztl. Wochenschr. 1896. Ref. C. B. II 2, 96.)
- , Milk as a medium of infection. (Orig. New York Medical Journ. 1887, zitiert nach C. B. 2, 87.)
- Moeller, Ueber den Zellkern und die Sporen der Hefe. (Orig. C. B. 12, 92.)
- , Weitere Mitteilungen über den Zellkern und die Sporen der Hefe. (Orig. C. B. 14, 93.)
- Moldenhawer, Fastenrisering i Amerika. (Maelkeritidende. 1901.)
- Moore und Ward, Untersuchungen über den Ursprung von Bakterien, welche in geronnener Milch Gas und Farbe hervorbringen. (Orig. Bullet. Cornell. University agric. exper. station. 1899. Ref. C. B. II 5, 99.)
- Mosler, Ueber blaue Milch und durch deren Genuß herbeigeführte Krankheiten. (Orig. Virchows Archiv f. pathol. Anatomie 43, 68.)
- Musso siehe Manetti.
- Neelsen, Studium über die blaue Milch. (Orig. Cohns Beiträge zur Biologie der Pflanzenwelt. III.)
- Neumann, Ueber die Konservierung der Milch durch Kaliumbichromat, Ammoniak und Ammoniakverbindungen. (Orig. Milchztg. 22, 93.)
- Niemann, Mitteilungen über einen gelegentlichen Befund bei Untersuchungen von sterilisierten Milchproben. (Orig. H. R. 1894. Ref. C. B. 17, 95.)
- Obermaier, Ueber die Abnahme des Zitronensäuregehalts beim Kochen. (Orig. A. H. 50, 04.)
- Oppenheimer, Biologie der Milchkotbakterien des Säuglings. (Orig. C. B. 6, 89.)
- Paunel, An aromatic bacillus of cheese (Bacillus aromaticus n. sp.)
- , Some bacteriological work in the dairy. (Orig. Extracts from the Iowa agric. exper. stat. bullet. 1894. Ref. C. B. 16, 94.)
- Pasquale, Vergleichende Untersuchungen über Streptokokken. (Orig. Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathologie von Prof. Ziegler. Bd. XII. Ref. C. B. 15, 94.)
- Peter siehe Wyssmann.
- Petersen, Ueber die Verbreitung von ansteckenden Krankheiten durch Milchgenuß. (Orig. Tiermediz. Vorträge. Bd. III. Ref. C. B. 19, 96.)

- Petri, Ueber die Herstellung von Dauermilch unter Anlehnung an Versuche mit einem bestimmten neueren Verfahren. (Orig. Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. 7, 91.)
- Pfuhl, Beitrag zur Lehre von der Uebertragung des Typhus durch Milch. (Festschr. Merlin. 1895. Ref. C. B. 19, 96.)
- Pictes und Weyl, Ueber die Herstellung von Dauermilch mit dem Apparate der Herren Neuhauss, Gronwald und Oehlmann. (Orig. Berl. klin. Wochenschr. 1891.)
- Plaut, Untersuchungen über Milchschnitz und einfaches Verfahren, denselben zu beseitigen. (Orig. Z. H. 30, 99.)
- Popp und Becker, Ueber die Verarbeitung erhitzter Milch in den Molkereien. (Orig. H. R. 3, 93.)
- Prescott, Ueber die anscheinende Gleichheit der Kulturreaktionen des *Bact. coli communis* mit denen gewisser Milchbakterien. (3. Vers. der amerik. bakteriol. Gesellschaft. 1901. Orig. Ref. C. B. 8, 02.)
- Rabinowitsch, Untersuchungen über pathogene Hefearten. (Orig. Z. H. 21, 95. Ref. C. B. 18, 95.)
- Rahn, Die Zersetzung der Fette. (Orig. C. B. II 15, 05.)
- Rasmund, Zur Verbreitung des Typhus durch den Milchverkehr. (Orig. Zeitschr. f. Medizinab. 1897. Ref. C. B. 22, 97.)
- Ratz, Ueber die schleimige Milch. (Orig. Archiv f. Tierheilkunde. 16, 90.)
- Raum, Zur Morphologie und Biologie der Schoßpilze. (Orig. Z. H. 10, 91.)
- Reinmann, Untersuchungen über die Ursachen des Ranzigwerdens der Butter. (Orig. C. B. II 6, 00.)
- Reitz, Hygienische Studien über das Württb. Molkereiwesen. (Orig. Zeitschr. f. Fl. u. Milchhygiene 15, 05. Ref. Medizin. Korrespondenzbl. 19, 05.)
- , Milchhygiene und Tuberkulosebekämpfung in Dänemark und Schweden, zugleich ein Beitrag zur Technik der Pasteurisirapparate. (Orig. Zeitschr. f. Fl. u. Milchhyg. 16, 05.)
- , Das Vorwärmen der Milch und die Rahmsäuerungsmethoden in Dänemark und Schweden. (Orig. Zeitschr. Landw. Maschinen und Geräte 6, 06.)
- , Die dänische und schwedische milchwirtschaftliche Industrie als Muster für unser süddeutsches Molkereiwesen. (Orig. Leipz. Molkereiztg. 1, 06.)
- Renk, Ueber Marktmilch in Halle. (Orig. Münchn. med. Wochenschr. 1891. Ref. C. B. 10, 92.)
- Rippert, Der Einfluß der Säuregrade im Rahm auf die Butterausbeute. (Inaug.-Dissert. Leipzig. 1896. Ref. C. B. II 2, 96.)
- Ritthausen und Naumann, Ueber Zerstörung durch Fett durch Schimmelpilze. (Orig. Deutsche landw. Versuchsstation 37, 96. Ref. C. B. II 2, 96.)
- Ritz, Zur Behandlung der blauen Milch. (Orig. Berl. Tierärztl. Wochenschr. 7, 91. Ref. C. B. 11, 91.)
- Rodella, Ueber das regelmäßige Vorkommen der streng anaëroben Bacillen und über andere Anaërobenarten in Hartkäsen. (Orig. C. B. II 10, 03.)
- Rodet, De la stérilisation du lait. (Orig. Lyon. Médical 57, 94. Ref. C. B. 17, 95.)
- , Sur la stérilisation du lait. (Orig. Revue d'hygiene et de police sanitaire. 1894. Ref. C. B. 17, 95.)
- Rogers, Eine fettspaltende Torulahefe, aus Büchsenbutter isoliert. (4. Jahressitzung (1902) der Ges. amerikan. Bakteriologen. Ref. C. B. II 10, 03.)
- , Ueber die Ursachen der bei in Büchsen verpackter Butter vorkommenden Zersetzungen. (Orig. C. B. II 12, 04.)
- Rotsch, Milk, its production, its care, its use. (Proced. and addresses of the 4. general conference of the Health officers in Michigan. 1899.)
- Roth, Ueber die mikroskopische Untersuchung der Butter auf Bakterien, insbesondere auf Tuberkelbacillen. (Orig. Korrespondenzbl. f. Schweizer Aerzte. 1897. Ref. C. B. 22, 97.)
- Rowland, Cheese and butter as possible carriers of thyphoid and cholera infection. (Orig. British Medical Journ. 1895. Ref. C. B. 18, 95.)
- Rowlandson, On the production of butter. (Orig. Journ. of the roy. agric. society of England 13, 52.)
- Russel, A biological study of pasteurized milk and cream under commercial conditions. (Orig. C. B. II 1, 95.)
- , Bedingungen betreffend den Wärmegrad zur Abtötung der Bakterien in der Milch. (3. Versammlung der amerik. bakteriol. Gesellschaft. 1901. Orig. Ref. C. B. II 8, 02.)
- Russel and Hastings, On the increased resistance of bacteria in milk pasteurized in contact with the air. (Orig. C. B. II 8, 02.)
- siehe Babcock.
- siehe Farrington.

- Sacharbekoff, K. bacteriologii Petersburgskagr moloka. (Inaug.-Dissert. Petersburg. 1895. Ref. C. B. II 2, 96.)
- Schaffer, Ueber den Einfluß des sogenannten Nachwärmens bei der Käsefabrikation auf die Reifungsprodukte der Käse. (Orig. Landw. Jahrb. der Schweiz. 9, 95. Ref. C. B. II 1, 95.)
— siehe Freudenreich.
- Schattenfroh und Grassberger, Ueber neuere Buttersäuregärungserreger in der Marktmilch. (Orig. C. B. II 5, 99.)
—, Weitere Mitteilungen über Buttersäuregärung. (Orig. C. B. II 5, 99.)
—, Ueber Buttersäuregärung. (Orig. A. H. 37, 00. Ref. C. B. II 6, 00.)
— siehe Grassberger.
- Scheurlen, Ueber die Wirkung des Zentrifugierens auf Bakteriensuspensionen, besonders auf die Verteilung der Bakterien in der Milch. (Orig. Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. 7, 91. Ref. C. B. 11, 91.)
- Schierbach, Ueber die Variabilität der Milchsäurebakterien mit Bezug auf die Gärungsfähigkeit. (Orig. A. H. 38, 00.)
- Schlegtendal, Die Bedeutung der Molkereien für die Verbreitung des Unterleibstypus. (Deutsche Vierteljahrsschr. f. öffentl. Gesundheitspflege. 1900. Ref. C. B. 29, 01.)
- Schmidt, Milch, die Quelle einer Typhusepidemie. (Inaug.-Dissert. Halle. 1893. Ref. C. B. 15, 94.)
—, Ueber die Vorgänge beim Ranzigwerden und den Einfluß des Rahmpasteurisierens auf die Haltbarkeit der Butter. (Orig. H. Z. 28, 98.)
- Schmidt-Mühlheim, Untersuchungen über fadenziehende Milch. (Pflügers Archiv 27, 82.)
- Schmoeger, Ueber Zentrifugenkäse. (Orig. Milchztg. 12, 83.)
- Scholl, Die Milch.
—, Beiträge zur Kenntnis der Milchzersetzen durch Mikroorganismen. (Orig. Fortschr. der Medizin. 1890. Ref. C. B. 7, 90.)
- Schreiner, Ueber Kuhmilch. (Orig. Tagebl. d. 50. Versammlung deutsch. Naturforscher u. Aerzte. 1877.)
- Schulz, Ueber den Schmutzgehalt der Würzburger Marktmilch und die Herkunft der Milcbakterien. (Orig. A. H. 14, 92.)
- Schütz, Untersuchung der säurefesten Pilze zur Förderung der Molkereiwirtschaft. (Orig. Landw. Jahrb. 30, 01. Ref. C. B. II 8, 02.)
- Schuppan, Die Bakterien in ihrer Beziehung zur Milchwirtschaft. (Orig. C. B. 13, 93.)
- Schweitzer, Milchhygienische Studien. (Orig. C. B. II 10, 03.)
- Sebelien, Aeltere und neuere dänische Versuche über die Haltbarkeit der Milch und deren Vergrößerung durch Pasteurisieren. (Orig. Molkereiztg. 1892. Ref. C. B. 12, 92.)
- Severin und Rudinoff, Ein Beitrag zur Bakteriologie der Milch. (Orig. C. B. II 14, 05.)
- Sewerin, Ueber eine neue in Butter Aroma bildende Bakterienart. (Orig. C. B. II 11, 04.)
- Sigismund, Untersuchungen über die Ranzidität der Butter unter Berücksichtigung der Marktverhältnisse in Halle a. S. (Inaug.-Dissert. Halle a. S. Ref. C. B. 15, 94.)
- Sior, Einige Untersuchungen über den Bakteriengehalt der Milch bei Anwendung einiger in der Kinderernährung zur Verwendung kommender Sterilisationsverfahren. (Orig. Jahrb. f. Kinderheilk. N. F. 34. Ref. C. B. 12, 92.)
- Sirleo siehe Maffucci.
- Soxhlet, Ein verbessertes Verfahren der Milchsterilisierung. (Orig. Münchener med. Wochenschr. 1891. Ref. C. B. 10, 91.)
- Steiger, Bakterienfunde bei der Euterentzündung der Kuh und der Ziege. (Orig. C. B. I 35, 04.)
- Steinhof, Ueber das Blauwerden der Milch. (Orig. Neue Annalen der Mecklenb. Landw.Ges. Rostock. 22, 38.)
- Sterling, Die peptonisierenden Bakterien der Kuhmilch. (Orig. C. B. II 1, 95.)
- Stocky siehe Hanus.
- Stoklasa, Ueber die Isolierung gärungserregender Empyeme aus Kuh- und Frauenmilch. (Orig. A. H. 50, 04.)
- Storch, Untersuchungen über Butterfehler und Säuerung des Rahms. (Milchzeitung. 19, 90.)
- Strub, Ueber Milchsterilisation. (Orig. C. B. 7, 90.)
- Stühlen, Ueber die Verbreitung von Krankheiten durch Milch und deren Produkte, sowie über die Maßregeln gegen die Verbreitung vom sanitären polizeilichen Standpunkt. (Orig. Tiermediz. Vorträge Bd. III. Ref. C. B. 19, 96.)

- Teichert, Beiträge zur Biologie einiger in Molkereiprodukten vorkommenden Schimmelpilze. I. (Orig. Milchzeitung 1902. Ref. C. B. II 10, 03.)
—, Beiträge zur Biologie einiger in Molkereiprodukten vorkommenden Schimmelpilze. II. (Orig. Milchzeitung 1903. Ref. C. B. II 12, 04.)
Thierfelder siehe Günther.
Thöni siehe Freudenreich.
Thörner, Ueber einen Milchfehler und seine Ursachen. (Orig. Chem. Zeitung. 1894. Ref. C. B. 16, 94.)
Thumm, Beiträge zur Kenntnis der fluoreszierenden Bakterien. (Orig. Arb. a. d. bakt. Inst. d. Techn. Hochschule Karlsruhe. I. Ref. C. B. II 1, 95.)
Tjaden, Abtötung der pathogenen Keime in der Molkereimilch durch Erhitzung ohne Schädigung der Milch und Milchprodukte. (Orig. Deutsche med. Wochenschr. 1903. Ref. C. B. I 34, 04.)
Tolomei, Das Gerinnen der Milch in der Gewitterluft. (Orig. Milchzeitung. 20, 91.)
Tower, Milk infection. (Orig. Med. News. 1891. Ref. C. B. 12, 92.)
Troili-Petersson, Studien über saure Milch und Zähmilch. (Orig. Z. H. 32, 99. Ref. C. B. II 6, 00.)
Tscheppé, Gegorene Milch. (Orig. Pharmaceutical Journal. 1889.)
Uhl, Untersuchungen der Marktmilch in Gießen. (Orig. Z. H. 12, 92. Ref. C. B. 14, 93.)
Uhlmann, Der Bakteriengehalt des Zitzenkanals (Ductus papillaris) bei der Kuh, der Ziege und dem Schafe. (Orig. C. B. I 35, 04.)
Ullmann, Die Fundorte der Staphylokokken. (Orig. Z. H. 4, 88. Ref. C. B. 4, 88.)
Utz, Beiträge zur Kenntnis der spontanen Gerinnung der Milch. (Orig. C. B. II 11, 04.)
Vanghan, The prevention of Cholera infantum and allied diseases, and of poisoning by cheese, milk etc. (Orig. The sanitary Journal. 1887. Ref. C. B. 2, 87.)
—, Ueber die Anwesenheit von Tyrotoxinen in giftigem Eis und giftiger Milch und seine wahrscheinliche Beziehung zur Cholera infantum. (Orig. A. H. 7, 87. Ref. C. B. 3, 88.)
Vieth, Die Behandlung der aus Molkereien wegzugehenden Magermilch bei herrschender Maul- und Klauenseuche. (Orig. Milchzeitung. 1894. Ref. C. B. 16, 94.)
Voelker, On the composition of cheese and on the practical mistakes in cheesemaking. Orig. Journ. of the Roy. Agricultural Society of England. 22, 61.)
Voigtländer siehe Deycke.
Vries, Ueber blaue Käse. (Orig. Petersens Milchzeitung. 17, 88. Ref. C. B. 5, 89.)
— siehe Boekhout.
Wallace, Cases of cheese poisoning. (Orig. Medical News. 1887. Ref. C. B. 2, 87.)
Ward, Ropiness in milk and cream. (Orig. Bulletin of the Cornell University agricultural exper. station. 1899. Ref. C. B. II 6, 00.)
—, The persistence of bacteria in the milk dults of the cow's udder. (Orig. Journal of applied microscopy. Vol. I. Ref. C. B. II 5, 99.)
— siehe Moore.
—, Bacillus lactis viscosus, a cause of ropiness in milk and cream. (Orig. Journal of the Boston soc. of med. sc. Vol. V. 1901.)
Warrington, Curdling of milk by microorganisms. (Orig. The Lancet 1888. I. Ref. C. B. 4, 88.)
Wehmer, Ueber den Einfluß der Buttersäure auf Hefe, Gärung und Bakterien. (Orig. Chem. Zeitung 1901. Ref. C. B. II 8, 02.)
Weidenbaum, Ueber die morphologischen und physiologischen Unterschiede zwischen Oidium albicans und Oidium lactis. (Orig. Arb. d. St. Petersburger Naturforscherges., Abt. für Botanik. 1891. Ref. C. B. 11, 91.)
Weidmann, Untersuchungen über die Zusammensetzung und den Reifungsprozeß des Emmentaler Käse. (Orig. Landw. Jahrbuch. 11, 82.)
Weigmann, Der Zweck und die Aufgaben der bakt. Abteilung der milchwirtsch. Versuchsstation Kiel. (Orig. Milchzeitung. 1889. Ref. C. B. 11, 91.)
—, Die Säuerung des Rahms mittelst Bakterienkulturen. (Orig. Landw. Wochenblatt f. Schleswig-Holstein. 1890. Ref. C. B. 11, 91.)
—, Neue Mitteilungen über Rahmsäuerung mittelst Reinkulturen von Säurebakterien. (Orig. Milchzeitung. 1890. Ref. C. B. 11, 91.)
—, Ueber die Lochbildung und Blähung der Käse. (Orig. Deutsche Milchzeitung. 19, 90.)
—, Ueber bittere Milch. (Orig. Milchzeitung. 19, 90.)
—, Erfahrungen über die Rahmsäuerung mit Bakterienreinkulturen. (Orig. Landw. Wochenblatt für Schleswig-Holstein. 1892. Ref. C. B. 11, 91.)

- Weigmann, Die Methode der Milchkonservierung, speziell das Pasteurisieren und Sterilisieren der Milch. Bremen (Heinsius Nachf.) 1893.
- und Zirn, Ueber das Verhalten der Cholera-Bakterien in Milch und Molkereiprodukten. (Orig. C. B. 15, 94.)
- , Ueber seifige Milch. (Orig. C. B. 15, 94.)
- , Ueber den jetzigen Stand der bakteriologischen Forschung auf dem Gebiete des Käse- und Molkereiproduktionsprozesses. (Orig. C. B. II 2, 96.)
- , Zum Butteraroma. (Orig. C. B. II 3, 97.)
- , Ueber die Beteiligung der Milchsäurebakterien an der Reifung des Käses. (Orig. C. B. II 4, 98.)
- , Ueber zwei an der Käse- und Molkereiproduktion beteiligte Bakterien. (Orig. C. B. II 4, 98.)
- , Ueber den Anteil der Milchsäurebakterien an der Reifung der Käse. (Orig. C. B. II 5, 99.)
- , Ueber die bakteriologische Zusammensetzung und über die Wirkung zweier „direkter Rahmsäureentwickler.“ (Orig. Milchzeitung. 1900. Ref. C. B. II 7, 01.)
- Weleminsky, Ausscheidung von Mikroorganismen durch die tätige Milchdrüse. Bericht von der 69. Vers. deutscher Naturforscher und Aerzte in Braunschweig. (Orig. C. B. 23, 98.)
- Weyl siehe Pictes.
- White, Observations on milk coagulation and digestion. (Orig. Journal of the Boston soc. of med. scienc. Vol. V. 1900.)
- Wibbens und Heeizenga, Untersuchungen über die Verdaulichkeit der Butter und einiger Surrogate derselben. (Orig. Archiv f. d. ges. Physiol. (Pflüger) 1901. Ref. H. R. 11, 01.)
- Wilckens, Ueber die Verteilung der Bakterien in Milch durch die Wirkung des Zentrifugierens. (Orig. Oesterr. Molkereizeitung. 1894. Ref. C. B. 16, 94.)
- siehe Adametz.
- Will, Bemerkungen zu der Mitteilung von Casagrandi: Ueber die Morphologie der Blastomyceten. (Orig. C. B. II 4, 98.)
- Winkler, Zur Charakterisierung der Duclauxschen Tyrothrix-Arten, sowie über die Variabilität derselben und den Zusammenhang der peptonisierenden und Milchsäurebakterien. (Orig. C. B. II 1, 95.)
- Winogradsky, Clostridium Pastorianum, seine Morphologie und seine Eigenschaften als Buttersäureferment. (Orig. C. B. II 9, 02.)
- Wittlin, Ueber die angebliche Umänderung von Tyrothrix tenuis (Duclaux) in ein Milchsäurebakterium. (Orig. C. B. II 2, 96.)
- Wüthrich und Freudenreich, Ueber den Einfluß der Fütterung auf den Bakteriengehalt des Kuhkotes. (Orig. C. B. II 1, 95.)
- Wurtz et Lendes, Note sur l'identité du bacille lactique de Pasteur avec le bacillus lactis aerogenes. (Comptes rendus de la société de Biologie. 49, 93.)
- Wyss, Ueber den Milchschwamm, ein Beitrag zur Lehre von den Milchbakterien. Verhandl. der Sektion f. Kinderheilk. auf der 62. Naturforschervers. zu Heidelberg. (Ref. C. B. 6, 89.)
- Wyssmann und Peter, Milchkenntnis und Milchuntersuchung. (Ref. C. B. II 8, 02.)
- Zacharbekow, Zur Bakteriologie der Petersburger Milch. (Orig. Wratsch. 1895. Ref. C. B. 18, 95.)
- Zangenmeister, Kurze Mitteilungen über Bakterien der blauen Milch. (Orig. C. B. 18, 95.)
- Zirn, Welchen Nutzen hat die Bakteriologie dem Molkereigewerbe bis heute gebracht? Vortrag, geh. in der Vers. des Schleswig-Holsteinschen Molkereibeamten-Vereins. (Orig. Landw. Wochenblatt für Schleswig-Holstein. 1895. Ref. C. B. II 1, 95.)

Nachdruck verboten.

Ueber ein Stickstoff assimilierendes Clostridium.

(Mitteilung aus dem landwirtschaftlich-bakteriologischen Institut der
Universität Göttingen.)

Von Dr. Hans Pringsheim.

[Erste Mitteilung.]

Seitdem Winogradsky (1) das Clostridium Pasteurianum beschrieb, ist keine von diesem scharf unterschiedene Form dieser Klasse von Buttersäurebakterien bekannt geworden, der die Fähigkeit, freien Stickstoff zu assimilieren, zukommt¹⁾. Zwei von Winogradsky aus Erde isolierte Bakterien (2), denen die Festlegung des Luftstickstoffes gelingt, sind noch nicht in Reinkultur gewonnen oder näher beschrieben worden (3).

Es ist mir jetzt gelungen, das als „eine Alkohole bildende Bakterienform“ von mir beschriebene (4) Clostridium durch folgenden Kunstgriff zum Wachstum in stickstofffreier Lösung zu bringen, nachdem im Stickstoffstrom in Winogradskyscher Lösung keine Gärung zu erreichen war. Winogradskysche Lösung wurde mit Calciumcarbonat und einer Menge von schwefelsaurem Ammoniak, die weniger Stickstoff, als zur Vergärung des vorhandenen Zuckers nötig war, enthielt, versetzt und aus einer frischen Kartoffelkultur geimpft. Gärung trat auf diese Weise bald ein und setzte sich noch fort, als aller Erwartung nach die geringe Stickstoffmenge des schwefelsauren Ammons schon verbraucht war. Wurde aus einer solchen mindestens eine Woche alten Gärung in Winogradskysche Lösung ohne Stickstoffzusatz abgeimpft, so ging auch sie nach ein paar Tagen in Buttersäuregärung unter Abgabe eines Gemisches von Wasserstoff und Kohlensäure über, wobei eine, später durch die Analyse bestätigte Stickstoffassimilation aus der Luft, wahrscheinlich wurde.

Da es mir gelang, aus einer assimilierenden Kultur immer neue Winogradskysche Lösungen, die keinen gebundenen Stickstoff enthielten, durch Abimpfen zur Gärung und Assimilation zu bringen, muß ich annehmen, daß dem Bakterium diese Fähigkeit durch das lange Leben auf einem so stickstoffreichen Medium wie Kartoffel verloren gegangen und durch die allmähliche Entziehung des gebundenen Stickstoffes wieder angewöhnt worden war.

1) Nach Abschluß meiner Arbeit erschien die von E. Haselhoff und G. Brede-
mann (Landwirtsch. Jahrb. Bd. XXXV. 1906. p. 381) über dasselbe Thema. Die von
diesen Autoren durch anaerobe elektive Kultur isolierten Clostridien gären bei gleich-
zeitiger Stickstoffassimilation nach den bisherigen Versuchen nur im Stickstoffstrom.
Die am genauesten charakterisierten Formen α und β haben zum Unterschiede von
meiner Form die von Winogradsky beobachtete Sporangienmembran als Sporen-
anhängsel. Die Form γ hat keine anhängende Sporangienmembran, kann aber Glycerin
und Rohrzucker nicht vergären, wozu Clostridium Americanum befähigt ist,
während ein Vergleich in Bezug auf die Vergärung von Kohlenstoffquellen für die
Formen δ und ϵ wegen mangelnder Angaben nicht möglich ist. Die assimilierte Stick-
stoffmenge im Verhältnis zur vergorenen Zuckermenge ist jedoch für beide geringer als
für Clostridium Americanum. Aus all diesen Angaben, besonders der verschiedenen
Empfindlichkeit gegen Sauerstoff und dem getrennten Fundorte, Europa gegen Amerika,
kann man schlußfolgern, daß meine Form mit keiner der von Haselhoff und Brede-
mann gefundenen identisch ist.

Mein *Clostridium* kann Lösungen im offenen Kolben in Reinkultur vergären und Stickstoff assimilieren, während *Clostridium Pasteurianum* nur im Stickstoffstrom und im offenen Kolben nur in Gegenwart aërober Sauerstoffverzehrer oder bei Stickstoffgabe zum Wachstum gebracht werden kann. Diese Anpassung an höhere Sauerstoffspannung als *Clostridium Pasteurianum* vertragen kann, ist von besonderer Wichtigkeit; im Zusammenhang mit der Fähigkeit zur Stickstoffassimilation wird sie insofern bedeutungsvoll, als durch sie weniger begrenzten Möglichkeiten für das Wachstum des *Clostridium* auf stickstofffreien Zuckerlösungen geschaffen werden, während in seiner letzten Veröffentlichung (5) über diesen Gegenstand Winogradsky nochmals besonders darauf aufmerksam macht, daß *Clostridium Pasteurianum* anaërob ist.

Besonders sei noch hervorgehoben, daß das Eintreten einer Gärung in stickstofffreier Lösung nach Abimpfen aus der in geschilderter Weise vorbereiteten Kultur nicht etwa zufällig oder durch die Anwesenheit von Sporen veranlaßt gewesen ist. Aus sporenhaltigen Kartoffelkulturen geimpfte stickstofffreie Winogradskysche Lösung konnte in keinem Falle zur Gärung gebracht werden!

Von besonderer Bedeutung scheint mir die vielfache Uebereinstimmung der von mir aus amerikanischer Kartoffel isolierten Form mit der Grassberger und Schattenfrohschen Klasse *Granulobacter mobilis non liquefaciens*, wie ich sie l. c. p. 311 zusammengestellt habe. Die Prüfung von *Granulobacter mobilis non liquefaciens* anderen Ursprungs in Bezug auf die Assimilation des freien Stickstoffs stelle ich in Aussicht. Auch hiesige Kartoffel geht, mit sterilem Wasser übergossen leicht, bei 35° C in eine Buttersäuregärung über, die durch Abtöten aller nicht sporenbildenden Formen bei 10 Minuten langem Erhitzen auf 80° C leicht vorzureinigen ist. Dasselbe beobachtete ich mit Lupinen- und anderen Samen; die Prüfung der Frage, ob für gewisse Früchte auch bestimmte Bakterien charakteristisch sind, steht noch aus.

Zur Unterscheidung von bekannten Bakterien läßt sich anführen, daß das von mir isolierte *Clostridium*, das ich von jetzt an der Kürze wegen nach seinem Ursprung *Clostridium americanum* nennen will, für seine Stickstoffversorgung andere Ansprüche als früher bekannte Buttersäurebakterien, mit Ausnahme des *Clostridium Pasteurianum*, macht; dies wurde mir durch die Bemerkung Chudiakows (6) bekannt, daß *Clostridium butyricum* Prazmowski nicht mit salpetersaurem Natrium ernährt werden kann, während *Clostridium americanum* auch mit diesem Salz beim direkten Abimpfen aus Kartoffelkultur im offenen Kolben verschiedene Kohlenhydrate vergärt. Hier sei noch nebenbei erwähnt, daß letzteres bei Pepton- oder Ammonzufuhr auch Mannit vergärt, was ebenfalls nach Chudiakow (7) *Clostridium butyricum* unter diesen Bedingungen nicht tun kann.

Außer durch die Fähigkeit, auch im offenen Kolben in Reinkultur Traubenzucker ohne Zugabe gebundenen Stickstoffs zu vergären, unterscheidet sich *Clostridium americanum* von *Clostridium Pasteurianum* noch in anderer Beziehung. Unter der Bedingung der Stickstoffassimilation gärt es langsamer als letzteres. 20 g Traubenzucker waren in 500 ccm Flüssigkeit selbst bei ursprünglicher Gegenwart von 0,2 mg Stickstoff als schwefelsaures Ammon nach 145 Tagen noch nicht ganz vergoren. Weiteres darüber zeigt die folgende Tabelle.

Von anderen physiologischen Unterschieden ist besonders hervorzuheben, daß *Clostridium americanum* auch Mannit, Glycerin und Milchzucker vergärt, was *Clostridium Pasteurianum* nach Winogradskys Angaben nicht kann. Milchzucker wurde sowohl mit Pepton als Stickstoffquelle im Wasserstoffstrom wie auch mit schwefelsaurem Ammon im offenen Kolben vergoren. Dagegen gelang es mir noch nicht, milchzuckerhaltige Lösung ohne Anwesenheit gebundenen Stickstoffs zur Vergärung zu bringen. Ob bei geringer Stickstoffgabe dieser Zucker oder andere Kohlenhydrate außer Trauben- und Rohrzucker zur Stickstoffassimilation geeignet sind, muß eine weitere Prüfung ergeben. Kartoffel wird von *Clostridium americanum* leicht angegriffen. Auch Stärke wird mit Pepton oder schwefelsaurem Ammon kräftig vergoren.

Eine Degeneration des *Clostridium* mit schließlichem Verlust der Sporenbildungsfähigkeit, wie sie Winogradsky beobachtete, die eintritt, wenn die Bakterien dauernd auf an Stickstoff reichem Nährboden z. B. Kartoffel umgeimpft werden, tritt bei *Clostridium americanum* nicht auf.

Von verschiedenen Autoren wird angegeben, daß Buttersäurebakterien zwei Sporen in einem Bakterienorganismus enthalten können. Die Zeichnung von Fitz (8) läßt Doppelsporen deutlich erkennen. In noch klarerer Weise bildet sie Prazmowski (9) ab, was dann auch in Lafars technische Mykologie (10) übergegangen ist. Grimbert (11) hat für seinen *Bacillus orthobutyricus* die Ausbildung von zwei oder drei Sporen in einem Stäbchen beschrieben und durch Zeichnung veranschaulicht und auch v. Klecki (12) sagt von seinem *Bacillus saccharobutyricus*: „Die Fortpflanzung geschieht durch endständige (an einem Ende, seltener an beiden) Sporen.“

Beobachtet man die Clostridien noch ehe die Sporen gut ausgebildet sind, sieht man in der Tat polare Protoplasmanhäufungen, die einen gewissen Glanz zeigen und sich — was bemerkenswert ist — stärker als die Mitte färben und schwerer entfärben, aber nie scharfe Kontur. Auf diese Weise kommen Färbepreparate zu stande, die Doppelsporen sehr ähnlich sehen. Auch in den Grassberger und Schattenfrohschen (13) Mikrophotographien treten diese polaren Protoplasmanhäufungen hervor. Erwartet man nun aber, daß diese zu Sporen auswachsen, so sieht man sich getäuscht; denn verfolgt man die Sporenentwicklung in ein späteres Stadium, bis die Sporen reif sind, so findet man wenigstens bei meiner Form in den noch stark beweglichen Clostridien nur eine scharfumränderte Spore, während zwei nie zu finden sind.

Ich glaube daher annehmen zu dürfen, daß die Beobachtungen früherer Autoren in Bezug auf diesen Punkt bei Buttersäurebakterien auch die geschilderte Innenveränderung der Bakterien veranlaßt worden sind.

Als wichtiges morphologisches Merkmal gibt Winogradsky für *Clostridium Pasteurianum* die Sporenkapsel (14) an. Es ist von besonderem Interesse, daß sich diese bei meinem *Bacillus* nicht vorfindet. Die folgende Gegenüberstellung wird den Vergleich zwischen beiden Clostridien erleichtern.

| Clostridium Pasteurianum: | Clostridium americanum: |
|---|---|
| Clostridienform bei der Sporenbildung Beweglich, Geißeln? Granulosereaktion mit Jod Gelatineverflüssigung? | Clostridienform bei der Sporenbildung Beweglich, Geißeln peritrich Granulosereaktion mit Jod. Gelatine nicht verflüssigend. |
| Gärprodukte: Buttersäure, Essigsäure, Milchsäure? Wasserstoff und Kohlensäure Nach der Art der Kohlenstoff- oder Stickstoffquelle verschiedene höhere Alkohole. Isobutylalkohol, Normalbutylalkohol, Aethylalkohol. | Gärprodukte: Buttersäure, Essigsäure, Milchsäure Wasserstoff und Kohlensäure Auf Kartoffel oder Traubenzuckerpepton $\frac{1}{4}$ Isopropylalkohol $\frac{3}{4}$ Normalbutylalkohol. |

| | Vergärt | | Vergärt | |
|----------------------------|-------------------------|---|--|--|
| | in Stickstoffatmosphäre | in Tiefenkultur | in Wasserstoffatmosphäre | in Tiefenkultur |
| Ohne gebundenen Stickstoff | Traubenzucker | | | Traubenzucker Rohrzucker |
| Mit Pepton | | Dextrose, Rohrzucker, Lävulose, Inulin, Galaktose, Dextrin; dagegen nicht vergoren Milchzucker, Arabinose, Stärke, Gummi, Mannit, Dulcit, Glycerin und Calciumlaktat | Dextrose, Rohrzucker, Lävulose, Galaktose, Maltose, Mannit, Glycerin, Stärke, Milchzucker; dagegen nicht vergoren Calciumlaktat | Stärke, Rohrzucker, Dextrose, Milchzucker, Dextrin, Mannit; dagegen nicht Glycerin |
| Mit schwefelsaurem Ammon | | Dextrose, Rohrzucker, Inulin, | | Stärke, Rohrzucker, Dextrose, Milchzucker, Mannit; dagegen nicht Glycerin, Dextrin |
| Mit salpetersaurem Natrium | | | | Dextrose, Rohrzucker, Mannit |

Die folgende Tabelle enthält Resultate von quantitativen Stickstoffbestimmungen, die nach der Kjeldahlschen Methode ausgeführt wurden. Um das Stoßen, welches durch die gleichzeitige Anwesenheit von Kalk und Zucker veranlaßt wird, zu vermeiden, wurde die zuckerhaltige Flüssigkeit durch Abgießen vom Kalk getrennt und für sich verbrannt. Der Kalk wurde nach der Neutralisation mit Schwefelsäure in denselben Kolben gespült, worauf die Lösung bequem mit großer Flamme zur völligen Verbrennung gebracht werden konnte. In den Fällen, in denen die restierende Zuckermenge bestimmt werden sollte, wurde filtriert, die Verluste der Lösung an Wasser beim Sterilisieren und durch Verdunsten wieder auf 500 ccm ergänzt und davon 50 ccm zur Zuckerbestimmung zurückbehalten. Lösung und Rückstand wurden in diesen Fällen getrennt verbrannt und von den 450 ccm verbrannter Lösung ausgehend die assimilierte Menge auf 500 ccm berechnet. Wie in der Tabelle angegeben wurden die Stickstoffmengen des Filtrierpapiers, der Reagenzien und einer unvergorenen Zuckerlösung derselben Materialien in Abzug gebracht.

| 500 ccm Lösung | Tage | Niederschlag | Lösung | Summe | Zuckerrest | Zucker vergoren | Auf 1 g vergorenen Zucker assimiliert |
|---|------|--------------------------|---|--|------------|-----------------|---------------------------------------|
| 0,25 Proz. Zucker ohne N-Zusatz | 30 | 0,0017 g N ¹⁾ | 450 ccm = 0,0025 g N berechnet auf 500 ccm = 0,0029 g N | 0,0046 g N | — | 1,25 g | 0,0037 g N |
| 1 Proz. Zucker ohne N-Zusatz | 30 | 0,0043 g N ¹⁾ | 450 ccm = 0,0035 g N berechnet auf 500 ccm = 0,0039 g N | 0,0082 g N | 1,99 g | 3,01 g | 0,0027 g N |
| 4 Proz. Zucker mit 0,0002 g N als (NH ₄) ₂ SO ₄ | 113 | 0,0150 g N ¹⁾ | 450 ccm = 0,0053 g N berechnet auf 500 ccm = 0,0059 g N | 0,0209 g N — 0,0002 g N — 0,0207 g N | 2,51 g | 17,49 g | 0,0012 g N |
| 2 Proz. Zucker ohne N-Zusatz | 56 | 0,0081 g N ¹⁾ | 450 ccm = 0,0062 g N berechnet auf 500 ccm = 0,0069 g N | 0,0150 g N | 2,37 g | 7,63 g | 0,0020 g N |
| 1 Proz. Zucker ohne N-Zusatz | 56 | 0,0070 g N ¹⁾ | 450 ccm = 0,0027 g N berechnet auf 500 ccm = 0,0030 g N | 0,0100 g N | 1,61 g | 3,39 g | 0,0030 g N |
| 0,5 Proz. Zucker ohne N-Zusatz | 56 | 0,0057 g N | 450 ccm = 0,0022 g N berechnet auf 500 ccm = 0,0024 g N | 0,0081 g N | — | 2,5 g | 0,0032 g N |
| 4 Proz. Zucker ohne N-Zusatz | 73 | | assimiliert 0,0273 g N | | | | |
| 4 Proz. Zucker mit 0,0029 g N als (NH ₄) ₂ SO ₄ | 84 | | gefunden 0,0323 g N — 0,0029 g N assimiliert 0,0294 g N | | | | |
| 500 ccm Lösung und Reagentien | | | gefunden 0,0006 g N, die in obigen Resultaten in Abzug gebracht wurden. | | | | |

unter einer Haut von Penicillium glaucum

1) Der N des Filtrierpapiers wurde getrennt bestimmt und in Abzug gebracht.

Als Resultate der quantitativen Versuche ergeben sich, daß *Clostridium americanum* langsamer vergärt und Stickstoff assimiliert als *Clostridium Pasteurianum*. Dagegen wurde die Menge des assimilierten Stickstoffs, bezogen auf die Zuckereinheit, ebenso groß oder größer gefunden. Sie schwankt jedoch sehr nach Zeit und Zuckerkonzentration. Im allgemeinen läßt sich bis jetzt sagen, daß die Assimilation am Anfang der Gärung am größten ist, und daß höhere Zuckerkonzentration innerhalb der versuchten Grenzen bis 4 Proz. die Gärung beschleunigt.

Infolge seiner Fähigkeit im offenen Kolben in Reinkultur zu vergären, eignet sich *Clostridium americanum* wegen größerer Handlichkeit der Versuchsanstellung, als diese mit *Clostridium Pasteurianum* im Stickstoffstrom möglich ist, besonders zur Aufklärung der angedeuteten Fragen für stickstoffsammelnde nicht streng anaerobe Clostridien, weshalb ich eine Untersuchung in dieser Richtung etwa in der Art wie sie neuerdings für *Azotobakter* ausgeführt wurde (15), in Aussicht stelle.

Herrn Prof. A. Koch bin ich für das Interesse, das er dieser Arbeit entgegengebracht hat, zu Dank verpflichtet.

Göttingen, 1. Juni 1906.

Literatur.

- 1) Winogradsky, Comptes rend. de l'Ac. T. CXVI. 1893. p. 1385.
- 2) —, Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 43.
- 3) Vergleiche hierzu auch Krüger und Schneidewind, Landw. Jahrb. Bd. XXIX. 1900. p. 801.
- 4) Pringsheim, Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. II. Bd. XV. 1905. p. 300.
- 5) Winogradsky, Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 43.
- 6) Chudjakow, Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. II. Bd. IV. 1898. p. 389.
- 7) Vergleiche Lafar, Handbuch der technischen Mykologie, I, 3. p. 328.
- 8) Fitz, Ber. der deutsch. chem. Gesellsch. Bd. XI. 1878. p. 48.
- 9) Prazmowski, Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bakterien. Leipzig 1880. Taf. II. Fig. 2 f.
- 10) Lafar, Technical Mycology. Vol. I. 1898. p. 48.
- 11) Grimbert, Annales de l'Institut Pasteur. T. VII. 1893. p. 357.
- 12) Klecki, Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. II. Bd. II. p. 175.
- 13) Grassberger und Schattenfroh, Archiv für Hygiene. Bd. XLIII.
- 14) Vergleiche hierzu die Abbildung in Lafars Handbuch der technischen Mykologie. Bd. III. p. 6.
- 15) Twentysixth Annual Report of the New Jersey State Agricultural Experimental Station. 1905. p. 254.

Corrigendum.

In No. 15/16. Bd. XV. p. 499 und im Register p. 803 desselben Bandes lies Kossowicz statt Kossowitsch.

Inhalt.

Kaserer, Hermann, Die Oxydation des Wasserstoffes durch Mikroorganismen. (Schluß). p. 769.

Pringsheim, Hans, Ueber ein Stickstoff assimilierendes Clostridium, p. 795.

Reitz, Adolf, Weitere bakteriologische Untersuchungen mit der Stuttgarter Markt- und Handelsbutter. (Schluß), p. 776.

Corrigendum, p. 800.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band XVI enthaltenen Arbeiten.

- Adam s. Kaup.**
Antoni, W. s. Buchner, Ed.
Appel und Börner, Ueber Zerstörung der Kartoffeln durch Milben. 253
Barthel, Chr., Bidrag till kändedom om mjölksyrebakterier nas förekomst och utbredning utom mjölken. (Beiträge zur Kenntnis des Vorkommens und der Verbreitung der Milchsäurebakterien außerhalb der Milch.) 550
Beckwith, T. D. s. Kellermann, Karl F. Bernard, N., Nouvelles espèces d'endophytes d'Orchidées. 245
Blackmann, V. H. und Fraser, H. C. J., Fertilization in Sphaerotheca. 746
Blumenthal und Wolff, Beitrag zur Milchgärung. 549
Börner s. Appel.
Böttcher, Wirkt Didymchlorid, ein neues Desinfektions- und Konservierungsmittel, schädlich auf die Pflanzenproduktion? 272
Bokorny, Th., Beobachtungen über die Giftmenge, welche zur Tötung einer bestimmten Menge lebender Substanz nötig ist. 583
 —, Das Hefewachstum in mineralischer Nährlösung; Ausbleiben desselben bei Aussaat von Hefespuren. 239
 —, Nochmals über die Wirkung stark verdünnter Lösungen auf lebende Zellen. 259
 —, Ueber das Bindungsvermögen der Hefe für Farbstoffe und gewisse Metallsalze. 237
 —, Uebereinstimmendes Verhalten der Metalle der Kupfergruppe (Kupfer, Quecksilber, Silber) gegen Zellen niederer Pflanzen. 267
 —, Quantitative Wirkung der Gifte. 585
Bolle, Johann, Tätigkeitsbericht der k. k. landwirtschaftlich-chemischen Versuchstation in Görz im Jahre 1905. 529
Bonjean, Activité de l'eau oxygénée à l'élat naissant sur les germes des eaux. 269
Boutan, L., Un ennemi du café au Tonkin: le Hylotrechus du bambou sec. 253
Brazzola, Floriano, Significato dei batteri termofili di quelli della putrefazione e del gruppo coli, nell'esame batteriologico delle acque. 582
Brefeld, Oskar und Falck, Richard, Die Blüteninfektion bei den Brandpilzen und die natürliche Verbreitung der Brandkrankheiten. 572
Bruni, G., Il bacillo del tifo e le piante. 245
Bubák, Fr., Infektionsversuche mit einigen Uredineen (Orig.) 150
Buchner, Ed., Ueber den Nachweis von Enzymen in Mikroorganismen. 530
 — und **Antoni, W., Existiert ein Enzym für die Zymase?** 232. 607
 — und **Gaunt, R., Neue Versuche über die Oxydase der Essigbakterien.** 525
Buhlert und Flekendey, Zur Bestimmung der Salpetersäure im Boden. 272
 — —, Zur Methodik der bakteriologischen Bodenuntersuchung. (Orig.) 399
Busch, Ueber das Verhalten einer Bacillenwolke im fließenden Wasser. (Orig.) 119
Cantin, G., Sur la destruction de l'oeuf d'hiver du Phylloxera par le lysol. 764
Chodat, R. et Rouge, E., La Sycochymase ou le Labferment du Ficus Carica. (Orig.) 1
Chuard, E. et Porehet, F., Recherches sur l'adhérence comparée des solutions de verdet neutre et des bouillies cupriques, employées dans la lutte contre le mildiou. 593
Cingolani, M. s. Paterno, E.
City of Manchester Rivers Department. Annual report for the Year ending March 29th, 1905. 231
Corsini, A., Sulla vera natura della cosiddetta albumina delle acque termali di Porretta. Di un microorganismo non ancora descritto da quella isolato. 228
Delacroix, G., Sur une pourriture bactérienne des Choux. 747
Dewitz, J., Beobachtungen, die Biologie der Traubenmotte *Cochylis ambiguella* Hübn. betreffend. 579
D'heil, Beitrag zur Frage des Bakteriengehaltes der Milch und des Euters. 234
Dietel, P., Einige Bemerkungen über die Rostpilzflora Australiens. (Orig.) 733
 —, Ueber die Arten der Gattung *Phragmidium* I und II. 746
Eckstein, Zur genauen Kenntnis des *Pissodes validirostris* Gyll. gleich *strobili* Redtb. 755
Eger, Untersuchungen über die Methoden der Schädlingsbekämpfung und über neue

- Vorschläge zu Kulturmaßregeln für den Weinbau. 595
- Eichholz**, Das Verhalten der Kuhmilch zu fuchsinschwefliger Säure und ein Nachweis des Formalins in der Milch. 272
- , Ueber die Konservierung der Milch durch Wasserstoffsperoxyd. 271
- Endlich, R.**, Die Einschleppungsgefahr des Baumwollrüsselkäfers. 755
- Ernest, Ad. s. Stoklasa, Julius.**
- Esten, W. M.**, Milchsäurebakterien. 536
- Falek, Richard s. Brefeld, Oskar.**
- Fermi, Claudio**, Alte und neue Methode zum Nachweis der proteolytischen Enzyme. (Vorl. Mitt.) (*Orig.*) 176
- Flekkendey s. Buhlert.**
- Fillippo, Silvestri**, *L'ocnogina betica* (*Ocnogyna baeticum* Ramb.) *Conosciuta volgarmente allo stato larvale col nome di Bruco peloso.* 256
- Fischer, Eduard**, Ueber den Wirtwechsel bei den parasitischen Pilzen. 567
- Fraser, H. C. J. s. Blackmann, V. H.**
- Friedel s. Kolle.**
- Fuchs**, Etwas über *Pissodes harcyniae* Hbst. 754
- , **Willy**, Ueber den Einfluß der Metalle auf gärende Flüssigkeiten. (IV. Mitt.) (*Orig.*) 482
- Fuhrmann, Franz**, Der feinere Bau der Saccharomycetenzelle. (*Orig.*) 629. 697. 736
- , Zur Kenntnis der Bakterienflora des Flaschenbieres. I. *Pseudomonas cerevisiae.* (*Orig.*) 309
- Gaidukov, N.**, Ueber die ultramikroskopische Untersuchung der Bakterien und über die Ultramikroorganismen. (*Orig.*) 667
- Gaunt, R. s. Buchner, Ed.**
- Gorini, C.**, Sulla flora bacteria del formaggio di Grana. 742
- , Ueber die Gegenwart von säurelabbildenden Bakterien im reifenden Käse. 236
- , Zur Priorität der Methode der Käseuntersuchung durch mikroskopische Schnittpräparate. (*Orig.*) 66
- Gosio, B.**, I telluriti ed i seleniti come rivelatori delle inquinazioni bacteriche. 258
- Gruber, Theo**, Die beweglichen und unbeweglichen aéroben Gärungserreger in der Milch. (*Orig.*) 654. 711
- Guéguen, F.**, Les maladies parasitaires de la Vigne (parasites végétaux et parasites animaux). 751
- Guénaux, G.**, Entomologie et parasitologie agricoles. 578
- Güssow**, Ueber eine neue Krankheit an Gurken in England (*Corynespora Mazei* Güssow gen. et spec. nov.) 752
- Gutzeit, E.**, Einwirkung des Hederichs auf die Nitrifikation der Ackererde. (*Orig.*) 358
- Harding, H. A. und Prueha, M. E.**, Absorbierende Baumwolle als ein Mittel zur Verbreitung von *Pseudomonas radicola.* 539
- Hastings s. Russell.**
- Hayduck, Fritz**, Ueber die Bedeutung des Eiweißes im Hefeleben. 524
- Hecke, Ludwig**, Zur Theorie der Blüteninfektion des Getreides durch Flugbrand. 249
- Hedgecock, George Grant**, A disease of cauliflower and cabbage caused by *Sclerotinia.* 747
- , A disease of cultivated Agaves due to *Colletotrichum.* 747
- Heinemann, P. G.**, Bakterienarten, die beim Sauerwerden der Milch beteiligt sind. 538
- Heinze, Berthold**, Einige Beiträge zur mikrobiologischen Bodenkunde. (*Orig.*) 640. 703
- , Einiges über den Schwefelkohlenstoff, dessen Wirkung auf niedere pflanzliche Organismen, sowie seine Bedeutung für die Fruchtbarkeit des Bodens. (Eine kurze zusammenfassende Darstellung nach der einschlägigen Literatur unter Verwertung eigener Beobachtungen und Untersuchungen als vorläufige Mitteilung. (*Orig.*) 329
- Henneberg, W.**, Bakteriologische Untersuchungen in der Schnellseigfabrik, sowie Anreicherungs- und Säuerungsversuche mit Schnellseigbakterien. 551
- , Die im lagernden Essig lebenden Organismen und die bei der Pasteurisierung des Essigs anzuwendenden Temperaturen. 591
- , Versuche über die Widerstandsfähigkeit der verschiedenen Kartoffelsorten gegen Fäulnisbakterien. 570
- , Zur Kenntnis der Abtötungstemperatur der auf dem Malz lebenden schädlichen Mikroorganismen. 761
- Hewlett**, An experimental investigation of the Budde process for the preservation of milk. 590
- v. Höhnel, Franz**, Mykologische Fragmente. 744. 745
- Hofer**, Ueber die Vorgänge der Selbstreinigung im Wasser. 271
- Houard, C.**, Recherches anatomiques sur les Diptéroécidies des Genévriers. 254
- , Sur l'accentuation des caractères alpins des feuilles dans les galles des Genévriers. 578
- , Sur une Lepidoptéroécidie intéressante du *Scabiosa columbaria* L. 254
- , Variation des caractères histologiques des feuilles dans les galles du *Juniperus Oxycedrus* L. du Midi de la France et de l'Algérie. 253
- Hunger**, Untersuchungen u. Betrachtungen über die Mosaikkrankheit der Tabakpflanze. 568
- Huntemüller, O.**, Vernichtung der Bakterien im Wasser durch Protozoen. 289

- Hutchinson, H. B.**, Ueber Kristallbildung in Kulturen denitrifizierender Bakterien. (*Orig.*) 326
- Jelínek, Joh. s. Stoklasa, Julius.**
- Istvánfi, Gy de**, Sur l'hivernage de l'oïdium de la vigne. 751
- Kaserer, Hermann**, Die Oxydation des Wasserstoffes durch Mikroorganismen. (*Orig.*) 681. 769
- Kaup und Adam**, Die Reinigung der gefährlichen Abwässer einer Zuckerfabrik auf biologischem Wege. 270
- Kellermann, Karl F. und Beckwith, T. B.**, Die Bakterien der Wurzelknötchen der Leguminosen. 540
- Kieffer, J. J.**, Description de deux nouveaux genres de Cynipides. 255
- , Notes hyménoptérologiques. 255
- Kjer-Petersen**, Ein „Objektträgerkorb“ zum Färben von 12 Objektträgern auf einmal. (*Orig.*) 191
- Koch**, Die Maulwurfsgrille (*Gryllotalpa vulgaris* Latr.) als Rindenschädling junger Fichtenpflanzen. 257
- Kolkwitz**, Die Beurteilung der Talsperrenwässer vom biologischen Standpunkt. 230
- Kolle, Friedel, Kutscher und Meinecke**, Milchhygienische Untersuchungen. 232
- Korff**, Auswüchse an Kohlblättern. 748
- Kossowitsch**, Die Kleemüdigkeit des Bodens. 563
- Krüger**, Einfluß der Düngung und des Pflanzenwuchses auf Bodenbeschaffenheit und Bodenerschöpfung. 240
- , Ueber die Bedeutung der Nitrifikation für die Kulturpflanzen. 241
- Kusano, S.**, New species of Exoasceae. 248
- Kutscher s. Kolle.**
- Lafar**, Handbuch der technischen Mykologie. 2. verm. Aufl. (2. u. 3. Fortsetzung). 213
- Lange, H.**, Die Anwendung des Formaldehyds in Dickmaischbrennereien. 524
- , Ueber die Verwendung der Ameisensäure in der Brennerei. 240
- Laxa**, Ueber die Einwirkung der Milchsäure auf Kasein und Parakasein. 548
- Lindner, P.**, Einiges über den Weinbukettenschimmel (*Sachsia suaveolens*). 740
- Löhnis, F.**, Einführung in die Bakteriologie. Für Landwirte verfaßt. 738
- Lussana, Filippo**, Sulla viscosità del latte. 251
- Maassen**, Ueber Gallertbildungen in den Säften der Zuckerfabriken. 236
- Magnus, Paul**, *Sclerotinia Crataegi*. 577
- , Ueber die Gattung, zu der *Rhizophydium Dicksonii* Wright gehört. 247
- , Zwei parasitische *Harpogonium*-Arten und der Zusammenhang einiger Stilbeeren mit *Ovularia* oder *Ramularia*. 247
- Malenkovic s. a. Malenkovitsch.**
- , *Basillus*, Ueber die Ernährung holzzerstörender Pilze. (*Orig.*) 405
- Malenkovitsch**, Einige Daten über die Vergärbarkeit des Xylans. 556
- Malkoff, Konstantin**, Weitere Untersuchungen über die Bakterienkrankheit auf *Sesamum orientale*. (*Orig.*) 664
- Maquenne, L. und Roux**, Ueber den Einfluß der Reaktion auf die Wirkung der Diastase und die Zusammensetzung der verzuckerten Stärkekleister. 740
- Maublanc, A.**, Sur une maladie des Olives due au *Macrophoma dalmatica* (Thüm.) Berl. et Vogl II. A propos du *Dasy-scypha calyciformis* (Willd.). 751
- , *Trichoseptoria fructigena* nov. sp. 570
- Maurizio, A.**, Die Gärung des Mehlteiges. Zusammenfassende Uebersicht. (*Orig.*) 513
- Meinecke s. Kolle.**
- Meyer, Arthur**, Apparat für die Kultur von Bakterien bei hohen Sauerstoffkonzentrationen, sowie zur Bestimmung der Sauerstoffmaxima der Bakterien-species und der Tötungszeiten bei höheren Sauerstoffkonzentrationen. (*Orig.*) 386
- , Ueber Kugelbildung und Plasmoptyse der Bakterien. 541
- Miehe, Hugo**, Betrachtungen über die Standorte der Mikroorganismen in der Natur, speziell über die der Krankheitserreger. (*Orig.*) 430
- , **H[ugo]**, Ueber die Selbsterhitzung des Heues. 241
- Mitscherlich, Eilh. A.**, Bodenkunde für Land- und Forstwirte. 556
- Mollard, M.**, Une Coléopteroécidie nouvelle sur *Salix caprea*, type de cécidies facultatives. 578
- Momigliano, Enrico**, Esame chimico e batteriologico delle acque potabili dei piroscafi addetti al trasporto degli emigranti. 227
- Montemartini, L.**, Note di fisiopatologia vegetale. 246
- Müller, Erich**, Ein Apparat zum Kochen oder Pasteurisieren von Kindermilch. 763
- Nalepa, Alfred**, Neue Gallmilben. (26. Fortsetzung.) 256
- Nüsslin**, Der Fichtenborkenkäfer, *Tomicus typographus* L., im Jahre 1905 in Herrenwies und Pfullendorf. 581
- Osterwalder, A.**, Weitere Beiträge zur Kenntnis unserer Obstweihenfen. (*Orig.*) 35
- v. Oven, Ernst**, Eine neue Bakterien-erkrankung der Leguminosenfrüchte. (*Orig.*) 67
- Parow, E.**, Untersuchung gefrorener Kartoffeln (Chuño) aus Bolivien. 564
- Paterno, E. und Cingolani, M.**, Nuovo processo di disinfezione delle acque potabili. 269
- Peglion, V.**, Alterazioni delle castagne causate da *Penicillium glaucum*. 250
- , Intorno alla nebbia o mal bianco dell'Evonymus japonicus. 251
- , La rognia o tubercolosi del Nerium Oleander. 250

- Peglion, V.**, Sulla presenza in Italia del *Cytopus Lepigoni*. 250
- Perotti, R.**, Di una forma nitrosante isolata da un terreno di Roma. 259
- , Di una modificazione al metodo di isolamento dei microorganismi della nitrificazione. 258
- Petri, L.**, Di alcuni caratteri culturali della *Stictis Panizzei* De Not. 251
- , Ulteriori ricerche sopra i batterii che si trovano nell'intestino della larva della mosca olearia. 251
- Pirazzoli, F. s. Rossi, C.**
- Poda s. Stadlinger.**
- Porchet, F. s. Chuard, E.**
- Prescott, S. C.**, Bemerkung über die Indol erzeugenden Bakterien. (Vorl. Mitt.) 539
- Pringsheim, Hans H.**, Ueber die sogenannte „Bios-Frage“ und die Gewöhnung der Hefe an gezuckerte Mineralsalznährlösungen. (Orig.) 111
- , Ueber ein Stickstoff assimilierendes *Clostridium*. [1. Mitt.] (Orig.) 795
- Puttemans, A.**, Contribution à l'étude de la fumagine des Cafésiers. 752
- Quehl, Alfred**, Untersuchungen über die Myxobakterien. (Orig.) 9
- Rahn, Otto**, Ein Paraffin zersetzender Schimmelpilz. (Orig.) 382
- , Nachtrag zu der Literaturzusammenstellung über die Zersetzung der Fette. (Orig.) 488
- , Ueber den Einfluß der Stoffwechselprodukte auf das Wachstum der Bakterien. (Orig.) 417. 609
- Regensburger, Paul**, Vergleichende Untersuchungen an drei obergärigen Arten von Bierhefe. (Orig.) 289. 438
- Beh, L.**, Die Rolle der Zoologie in der Phytopathologie. 753
- Reltz, Adolf**, Bakteriologische Butteruntersuchungen. [Zusammenfassende Uebersicht.] (Orig.) 193
- , Weitere bakteriologische Untersuchungen mit der Stuttgarter Markt- und Handelsbutter. (Orig.) 719. 776
- Résolution du 2^e Congrès international de Laiterie.** (Orig.) 213
- Rodella, Antonio**, Ueber die Bedeutung der streng anaëroben Fäulnisbacillen für die Käsebereitung. [S. Mitt.] (Orig.) 52
- , Ueber die Klassifizierung der Bakterienflora der Milch mit besonderer Berücksichtigung der säurelabbildenden Bakterien. 741
- Roemer s. Wilfarth.**
- Rossi, C.**, La tossicità dei Sorghi come foraggio fresco. 743
- e **Pirazzoli, F.**, Primo contributo a la bacteriologia delle carni insaccate sane. 226
- Rouge, E. s. Chodat, R.**
- Roux s. Maquenne, L.**
- Russell und Hastings**, Störungen in der Käsebildung, veranlaßt durch Laktose zerlegende Hefearten. 535
- Rytz, Walther**, Beiträge zur Kenntnis der Gattung *Synchytrium*. [Vorl. Mitt.] (Orig.) 511
- Salmon, E[rnest] S.**, Further cultural experiments with „biologie forms“ of the *Erysiphaceae*. 572
- , The *Erysiphaceae* of Japan. II. 246
- Schalk**, Bekämpfung der Kieferschütte. 273
- Schellenberg, H. C.**, Das Absterben der sibirischen Tanne auf dem Adlisberg. 249
- Schnegg, H.**, Formaldehyd als Desinfektionsmittel für den Brauereibetrieb. 761
- Schneider, Otto**, Experimentelle Untersuchungen über schweizerische Weidenrostpilze. (Orig.) 74. 159. 192
- Schouteden, H.**, Note complémentaire sur les *Aphidocécidies paléarctiques*. 255
- v. Schrenk, Hermann**, Intumescences formed as a result of chemical stimulation. 753
- , On the occurrence of *Peronospora parasitica* on cauliflower. 750
- Schröter, A.**, Ueber Protoplasmaströmung bei Mucorineen. 743
- Seligmann, E.**, Ueber die Reduktasen der Kuhmilch. 741
- Semádeni, F. O.**, Neue heterözische Rostpilze. [Vorl. Mitt.] (Orig.) 385
- Siegfeld**, Untersuchungen über die Präservierung von Milchproben. 590
- Slack, Francis H.**, Die mikroskopische Schätzung der Bakterien in der Milch. 537
- Smith, Erwin F.**, Bacteria in relation to plant diseases. Vol. I. 565
- Sorauer**, Erkrankung von *Cereus nycticalis* Lk. 752
- Spaulding Perley**, A disease of black oaks caused by *Polyporus obtusus* Berk. 577
- Stadlinger und Poda**, Rotfleckige Butter. 743
- Stahl, Walther**, Bakteriologische und chemische Untersuchungen über Verunreinigung und Selbstreinigung kleinerer Flußläufe in der Umgebung von Freiburg i. B. 229
- Stefan, Josef**, Studien zur Frage der Leguminosenknöllchen. (Orig.) 131
- Stift, A.**, Auftreten der gemeinen Seide auf Zuckerrüben. 252
- , Ueber die im Jahre 1905 beobachteten Schädiger und Krankheiten der Zuckerrübe und einiger anderer landwirtschaftlicher Kulturpflanzen. 748
- Stoklasa, Jullus, Jelinek, Joh. und Ernest, Ad.**, Treten Stickstoffverluste im Boden ein bei Düngung mit Chilisalpeter? 739
- Stritter**, Ueber Körper im Serum normaler und pathologischer Milch, welche mit Beta-Naphtalinsulfochlorid reagieren. 235

- Sullivan**, Synthetic culture media and the biochemistry of bacterial pigments. 737
- Swellengrebel, N. H.**, Zur Kenntnis der Cytologie von *Bacillus maximus buccalis* (Miller). (*Orig.*) 617. 673
- Telebert**, Beitrag zur Biologie des in Milch gezüchteten *Bacillus typhi murium*. 764
- Thiele, R.**, Die Verarbeitung des atmosphärischen Stickstoffs durch Mikroorganismen. 557
- Thöni, J.**, Ueber nachträgliche Blähungen in Emmenthalerkäsen. 526
- Trotter, A.**, Intumescenze foliari di *Ipomoea Batatas*. 752
- Tubeuf, K., Frh. v.**, Die Uebernahme der pflanzenschutzlichen Einrichtungen der D. L.-G. auf eine Reichsanstalt. 763
- , Intumescenzenbildung der Baumrinde unter Flechten. 753
- , Verlust der Sproßspitzen an Fichten durch Eichhörnchen. 258
- Utz**, Ueber die Brauchbarkeit der fuchsin-schwefligen Säure zum Nachweise von Formalin in der Milch. 763
- Voglino, P.**, Intorno a lo sviluppo e parasitismo delle *Septoria graminum* Desm. e *S. glumarum* Pass. 248
- Vosseler, J.**, 1) Die Kräuselkrankheit der Baumwolle. 2) Der Fang der Rotwanze. 758
- , Einige Feinde der Baumwollkulturen in Deutsch-Ostafrika. 756
- Vosseler, J.**, Weitere Beobachtungen über Baumwollschädlinge in Deutsch-Ostafrika. 757
- , 1) Zwei Baumwollkrankheiten. 2) Immune Baumwollsorten. 760
- Wahl, Bruno**, Zur Kenntnis schädlicher Schmetterlingsraupen. Die Raupe von *Plodia interpunctella* Hw. 256
- Wahl, C. v.**, Ueber Verderber von Gemüsekonserven. (*Orig.*) 489
- Wanderscheck, H. s. Will. H.**
- Ward, Archibald B.**, Quantitative Bestimmung von Leukocyten in der Milch. 537
- Ward, H. Marshall**, Recent researches on the parasitism of Fungi. 565
- Warmbold**, Untersuchungen über die Biologie stickstoffbindender Bakterien. Ein Beitrag zur Kenntnis der Veränderungen im Stickstoffgehalte des unbebauten Ackerbodens. 560
- Wilfarth, Roemer und Wimmer**, Ueber die Vertilgung der Nematoden durch Behandlung des Bodens mit Schwefelkohlenstoff und deren Wirkung auf die Zuckerrübe. 594
- Will, H. und Wanderscheck, H.**, Beiträge zur Frage der Schwefelwasserstoffbildung durch Hefe. (*Orig.*) 303
- Wimmer s. Wilfarth.**
- Wolf s. Blumenthal.**
- Zikes, Heinrich**, Ueber *Anomalushefen* und eine neue Art derselben (*Willia Wichmanni*). (*Orig.*) 97. 416

II. Namen- und Sachverzeichnis.

- Abies sibirica*, Ursache des Absterbens. 249
- Abwasser von Manchester, Bericht. 231
- , Reinigung auf biologischem Wege. 270
- Acanthostigmella* n. g., Unterscheidung von *Acanthostigma* und *Chaetomastia*. 745
- *genuflexa* n. sp. auf *Phragmites communis*. 745
- Acker s. a. Boden.
- Ackererde, Wirkung des Hederichs auf die Nitrifikation. 358
- Actinobacterium lactis viscosum* (Duclaux), Schädling des Molkereibetriebes. 731
- Actinomyces*, Standort in der Natur. 435
- , Vorkommen in der Butter. 778
- *chromogenes*, Standort in der Natur. 435
- Actinomykose*, Verbreitung durch Milch. 543
- Actinonema Rubi* Fuckel, Nomenklatur. 744
- Aecidien von *Ranunculus auricomus*, Infektionsversuche. 150
- Aecidium von *Ranunculus bulbosus*, Infektionsversuche. 156
- *Clematidis*, Einfluß auf die Leistungen von *Clematis Vitalba*-Blättern. 246
- Aecidium Grossulariae* Schm., Ursache der Blattkrankheit der Stachelbeeren. 750
- *Seseli* Niessl, Zugehörigkeit zu *Uromyces graminis* Niessl. 152
- *Violae*, Einfluß auf die Leistungen von *Viola odorata*-Blättern. 246
- Agaricus melleus*, Bekämpfung. 595
- Agave Utahensis*, durch *Colletotrichum Agaves* Cav. geschädigt. 747
- Algen, blaugrüne, Assimilation von elementarem Stickstoff. 648. 703
- , grüne, Assimilation von elementarem Stickstoff. 646
- , Wirkung von Schwefelkohlenstoff. 338
- Alkalialbuminate, Wirkung der proteolyt. Enzyme. 186
- Alkoholgärung der Milch. 547
- Alternaria Violae*, Einfluß auf die Leistungen von *Viola odorata*-Blättern. 246
- Alucita Hübneri* s. *Orneodes Hübneri*. 255
- Ameisensäure, Verwendung in der Brennerei. 240
- Anaeroben, Vorkommen im Käse. 53
- Anomalushefen* s. Hefen, *Anomalus-*

- Anschwellungen s. a. Intumescenzen.
Anthonomus grandis, Einschleppungsgefahr,
 · geograph. Verbreitung. 755
 — *piri* L., Schädling der Birnbäume. 529
 — *pomorum* L., Schädling der Aepfelbäume.
 529
Aphide auf *Carum bulbo-castanum*, Gallen-
 bildung. 255
 — auf *Inula conyza*, Gallenbildung. 255
Aphidocecidien, paläarktische, Ergänzung.
 255
Aphis capsellae auf *Capsella bursa-pastoris*,
 Gallenbildung. 255
 — *cardui* auf *Chrysanthemum leucanthem-*
um, Gallenbildung. 255
 — — auf *Lithospermum officinale*, Gallen-
 bildung. 255
 — *epilobii* auf *Epilobium montanum*, Gallen-
 bildung. 245
 — *jacobaeae* auf *Senecio vulgaris*, Gallen-
 bildung. 255
 — *myosotidis*, Gallenbildung. 255
 — *rumicis*, Gallenbildung. 255
Aphthenseuche, Verbreitung durch Milch.
 543
 Arsen zum Nachweise von Bakterien. 258
Arthroderma Curreyi Berk., Beschreibung.
 746
Ascochyta Aquilegiae (Rabenh.) v. H. auf
Aquilegia vulgaris. 746
 — *Pisi* Lib.. Vorkommen auf Erbsenhülsen.
 67
 — *Robiniae* Lib. - *Phleospora Robiniae*
 (Desm.) v. Höhn. 745
Ascomyceten, Wirtswechsel. 568
Aspergillus fumigatus, Standort in der
 Natur. 434
 — —, Ursache der Selbsterhitzung der
 Gerste. 242
 — *niger*, Ursache der Selbsterhitzung des
 Heues. 245
Asterella olivacea n. sp. auf *Buxus sem-*
pervirens. 744
Asterionella, Vorkommen im Talsperren-
 wasser. 231
 Australien, Rostpilzflora. 733
Azotobacter chroococcum, Biologie. 560
 — —, Kultur. 557
 — —, Optimaltemperatur. 559
 — —, Verarbeitung des atmosphärischen
 Stickstoffes. 575
 — —, Vorkommen in verschiedenen Boden-
 arten. 558
Azotobacterorganismen, Verarbeitung des
 Luftstickstoffes. 643
 —, Wirkung von Schwefelkohlenstoff. 339
Bacillen, Fäulnis-, anaërobe, Morphologie.
 57
 —, Fäulnis-, anaërobe, Rolle bei der Käse-
 reifung. 52
Bacillenwolke, Verhalten im fließenden
 Wasser. 119
Bacillus acidi lactici (Günther) s. *Bacterium*
lactis acidi. 536
 — — — Hueppe, Enzym. 545
Bacillus acidi lactici in der Milch, Wirkung
 des Buddeprozesses. 591
 — — —, Rolle beim Sauerwerden der
 Milch. 538
 — — —, Vorkommen in der Milch. 536
 — *acidificans longissimus* Lafar, Enzym.
 545
 — — *presamigenes casei*, Klassifizierung.
 741
 — — — —, Vorkommen im reifenden
 Käse. 236
 — *actinobacter polymorphus*, Ursache der
 Käseblähungen. 526
 — *aërobius* aus Erbsenkonserven, Morpho-
 logie und Biologie. 496
 — *aërogenes* var. *lacticus*, Ursache des
 Sauerwerdens der Milch. 538
 — *anaërobicus* der Capronsäuregruppe,
 chemische Analyse der Milchkulturen. 61
 — — der Capronsäuregruppe, morpholo-
 gische und kulturelle Eigenschaften. 58
 — *anthracis* in der Milch, Wirkung des
 Buddeprozesses. 591
 — —, Vorkommen in der Milch. 543
 — *asterosporus* Migula (Meyer), Verhalten
 in Gemüsekonserven. 505
 — *bovis morbificans*, Wachstum. 419
 — *brassicaevorus* n. sp. Delacroix, Ursache
 der Nekrose des Kohles. 747
 —, Buttersäure-, Ursache der Käse-
 blähungen. 526
 — *capsulatus* Trifolii, Vorkommen im
 Darne der Oelbaumfliegenlarve. 252
 — *cholerae*, Wirkung des Formaldehyds.
 233
 — *coli* in der Milch, Wirkung des Budde-
 prozesses. 591
 — —, Standort in der Natur. 431
 — —, Ursache des Sauerwerdens der Milch.
 538
 — —, Ursache der Teiggärung. 518
 — — *albidoliquefaciens*, Ursache der Teig-
 gärung. 518
 — — *luteoliquefaciens*, Ursache der Teig-
 gärung. 518
 — — *communis*, Vorkommen in der Milch.
 536
 — *coligruppe*, Gärungserreger in der Milch.
 Biologie. 655. 711
 — der Coligruppe, Ursache der Teiggärung.
 516
 — *cyano-fluorescens*, Pigmentbildung. 738
 — *cyanogenus*, Schädling des Molkerei-
 betriebes. 731
 — *daucarum* n. sp. aus Karottenkonserven,
 Morphologie und Biologie. 494
 — *destruens* in Spargelkonserven. 502
 — *diatrypticus casei*, Ursache der Käse-
 blähungen. 526
 — *diphtheriae* in der Milch, Wirkung des
 Buddeprozesses. 591
 — —, Nachweis in der Butter. 724
 — *dysenteriae* in der Milch, Wirkung des
 Buddeprozesses. 591
 — —, Wirkung des Formaldehyds. 233

- Bacillus ethaceticus*, Alkoholgärung der Milch. 547
 —, Fäulnis- aus einem Gasabsceß, Produkte. 55
 — *fluorescens liquefaciens*, Ursache des Ranzigwerdens der Butter. 732. 776
 — (*butyri*) *fluorescens liquefaciens*, Vorkommen in der Butter. 778
 — *fluorescens liquefaciens*, Wachstum, Einfluß der Stoffwechselprodukte. 421. 609
 — *foetidus lactis* Jensen, Schädling des Molkereibetriebes. 731
 — *fuscus*, Farbstoffbildung. 738
 — *glutinis*, Ursache der Teiggärung. 519
 — Guillebeau, Schädling des Molkereibetriebes. 731
 — — a, b, c, Ursache der Käseblähungen. 526
 — *lactari* (Dinwidie) s. *Bacterium lactis acidi*. 536
 — *leguminiperdus* n. sp. Oven, Schädling der Leguminosenfrüchte. 73
 — *levans*, Ursache der Teiggärung. 516
 — *liquefaciens lactis amari*, Schädling des Molkereibetriebes. 731
 — *malakofaciens* aus Spargelkonserven, Morphologie und Biologie. 499
 — *maximus buccalis* (Miller), Cytologie. 617. 673
 — — — —, Mikrochemie. 628. 673
 — — — —, Spirale, Ruhestadien. 623
 — — — —, Spirale, Teilungsstadien. 626
 — *megatherium* De Bary, Verhalten in Gemüsekonserven. 505
 — *mesentericus*, Vorkommen in Wurst. 226
 — — *fuscus* Flügge, Verhalten in Gemüsekonserven. 505
 — — *vulgatus* Flügge in Champignonkonserven. 501
 — — — —, Schädling des Molkereibetriebes. 731
 — — — — Flügge, Verhalten in Gemüsekonserven. 505
 — *molestus*, Verunreinigung von Azotobacterkulturen. 557
 — *mycoides* in der Milch, Wirkung des Buddeprozesses. 591
 — — Flügge, Verhalten in Gemüsekonserven. 505
 — *oligocarbophilus*, Verhalten zu Kohlenoxyd. 769
 — — — —, Verhalten zu Wasserstoff. 695
 — *panificans*, Ursache der Teiggärung. 514
 — *pantotrophus* n. sp. Kaserer, Isolierung. 688
 — — — —, Morphologie. 689
 — — — —, Oxydation des Wasserstoffes. 694
 — — — —, Physiologie. 691
 — *paratyphi* in der Milch, Wirkung des Buddeprozesses. 591
 — —, Wirkung des Formaldehyds. 233
 — *phaseoli* aus Bohnenkonserven, Morphologie und Biologie. 500
 — —, Schädling der Limabohnen. 68
 — *Bacillus pisi* in Erbsenkonserven. 502
 — *prodigosus* s. a. *Bacterium prodigosum*.
 — *prodigosus*, Farbstoffbildung. 737
 — —, Ursache des Ranzigwerdens der Butter. 732
 — —, Verhalten einer — -Wolke im Kanalisationssystem. 128
 — —, Verhalten einer — -Wolke im Wasser. 123
 —, Pseudotuberkel-, Vorkommen in Butter. 198
 — *pyocyaneus*, Farbstoffbildung. 737
 — —, Unfähigkeit, in Pflanzen einzudringen. 245
 — *radicola*, Kultur. 146
 —, säurefester, Vorkommen in Butter. 205
 — Schafferer, Ursache der Käseblähungen. 526
 — *Sesami* n. sp. Malkoff, Biologie und Morphologie. 664
 — *subtilis* in der Milch, Wirkung des Buddeprozesses. 591
 — —, Standort in der Natur. 431
 — — (Ehrenberg) F. Cohn, Verhalten in Gemüsekonserven. 505
 — —, Vorkommen in Wurst. 226
 — *synxanthus*, Schädling des Molkereibetriebes. 731
 — *tetragenus*, Unfähigkeit, in Pflanzen einzudringen. 245
 — *thermophilus*, Rolle bei der Selbsterhitzung des Heues. 244
 — *tuberculosis* in der Milch, Wirkung des Buddeprozesses. 591
 — —, Standort in der Natur. 432
 — —, Vorkommen in Butter. 194
 — *tuberis* in Trüffelkonserven. 503
 — *typhi* in der Milch, Wirkung des Buddeprozesses. 591
 — —, Nachweis in der Butter. 721
 — — Gaffky, ultramikroskopische Untersuchung. 667
 — —, Unfähigkeit, in Pflanzen einzudringen. 245
 — —, Vernichtung durch Protozoen im Wasser. 589
 — —, Wachstum. 419
 — —, Wirkung des Formaldehyds. 233
 — — *murium*, in der Milch gezüchtet, Biologie. 764
 — *violaceus*, Pigmentbildung. 737
 — *Bacterium aceti*, Oxydase. 525
 — *acetigenum*, Infektion von Essigbildnern. 555
 — *ascendens*, Vorkommen im Essig. 552
 — *asparagi* in Spargelkonserven. 504
 — *butyri rubrum*, Ursache der rotfleckigen Butter. 743
 — *centropunctatum*, Vorkommen in böhmischen Rübenböden. 739
 — *coli*, Wachstum, Einfluß der Stoffwechselprodukte. 613
 — —, Wirkung des Formaldehyds. 233
 — — *commune* s. a. *Bacillus coli communis*.
 — — — —, Beziehung zur Milch. 546
 — — — —, Vorkommen in der Butter. 778

- Bacterium coli commune**, Vorkommen außerhalb der Milch. 550
 — coli-Gruppe, Bedeutung bei der bakteriologischen Wasseruntersuchung. 582
 — denitrificans, Vorkommen in böhmischen Rübenböden. 739
 — enteritidis, Wirkung des Formaldehyds. 233
 — farinaceum, Ursache der Teiggärung. 514
 — filefaciens, Vorkommen in böhmischen Rübenböden. 739
 — fluorescens, Wirkung von Schwefelkohlenstoff. 337
 — — liquefaciens, Vorkommen in böhmischen Rübenböden. 739
 — gelatinosum s. Clostridium gelatinosum.
 — Hartlebi, Vorkommen in böhmischen Rübenböden. 739
 — Hessii, Schädling des Molkereibetriebes. 731
 — lactis acidi s. a. Streptococcus lacticus. 544
 — — — Leichm., Rolle bei der Teiggärung. 521
 — — — —, Vorkommen in der Butter. 778
 — — — —, Vorkommen außerhalb der Milch. 550
 — — — —, Vorkommen in Milch. 536
 — — aërogenes, Beziehung zur Milch. 546
 — — —, Diagnose. 719
 — — —, Ursache der Käseblähungen. 526
 — — — Kruse, Ursache des Sauerwerdens der Milch. 544
 — — —, Ursache des Stallgeruches der Milch. 719
 — — — —, Vorkommen außerhalb der Milch. 550
 — — — —, Vorkommen in Milch. 536
 — — aërogenes-Gruppe, Gärungsreger in der Milch, Biologie. 654. 711
 — — erythrogenes, Schädling des Molkereibetriebes. 731
 — — longi, Schädling des Molkereibetriebes. 731
 — — viscosi (Adamez), Schädling des Molkereibetriebes. 731
 — nitrovorum, Vorkommen in böhmischen Rübenböden. 739
 — prodigiosum s. a. Bacillus prodigiosus.
 — —, Vorkommen in der Butter. 778
 — pyocyaneum, Vorkommen in böhmischen Rübenböden. 739
 — Stutzeri, Vorkommen in böhmischen Rübenböden. 739
 — xylinum, Ursache der Schleimbildungen im Essig. 591
 — —, Vorkommen in trübem Essig. 552
Bakterien s. auch Schizomyceten.
 —, Beziehungen zu Pflanzenkrankheiten. 565
 —, Bildung von Farbstoff. 222
 —, Butteräure-, Ursache der Buttersäuregärung. 546
 —, Denitrifikation. 402
 —, denitrifizierende, Kristallbildung. 326
Bakterien, Eindringungsvermögen in Pflanzen.
 —, Entbindung freien Wasserstoffes. 685
 —, Essig-, Oxydase. 525
 — —, Vorkommen im Essig, Widerstandsfähigkeit. 592
 —, Fäulnis-, ultramikroskopische Untersuchungen. 668
 —, Fäulnis-, Bedeutung bei der bakteriologischen Wasseruntersuchung. 582
 —, Fäulnis-, Widerstandsfähigkeit verschiedener Kartoffelsorten. 570
 —, Farbstoffbildung, Biochemie. 737
 —, Gase veratmende, Apparate zur Kultur. 684
 —, Indolbildung. 539
 —, Kernfrage. 617
 —, Konservenverderber, Resistenz der Sporen. 506
 —, Kugelbildung und Plasmoptyse. 541
 —, Kultur bei hohen Sauerstoffkonzentrationen, Apparat. 386
 —, auf dem Malz lebende, Tötungstemperatur. 761
 — der Milch, Herkunft. 541
 —, Milchsäure-, Biologie. 544
 — —, Enzyme. 545
 — —, Sauerwerden der Milch. 538
 — —, Untersuchungen. 536
 — —, Vorkommen und Verbreitung. 550
 —, Morphologie, Entwicklung, Systematik. 218
 —, Myxo- s. Myxobakterien.
 — aus der Myxomycetenkultur, ultramikroskopische Untersuchungen. 669
 —, Nachweis durch ihre Wirkung auf Tellur und Arsen. 258
 —, Nitrifikation. 404
 —, Nitroso-, Kultur. 259
 —, Oxydation des Wasserstoffes. 681. 769
 —, pathogene, Endotoxinbildung. 533
 —, pathogene der Milch, Widerstandsfähigkeit gegen Temperaturen. 233
 —, Peptonspaltung. 400
 —, Physiologie. 222
 —, Rolle bei der Reifung des Granakäses. 742
 —, Rolle beim Sauerwerden der Milch. 538
 —, Rolle bei der Selbsterhitzung des Heues. 241
 —, säure-lab-bildende, Klassifizierung. 741
 — —, Vorkommen im reifenden Käse. 236
 —, Sauerstoffmaxima für Keimung etc. Bestimmung. 386
 — Schätzung in der Milch. 537
 — Schnelllessig-, Anordnung auf den Holzspänen. 552
 —, Schnelllessig-, Anreicherungsversuche. 553
 — —, Morphologie. 551
 — —, Säuerungsversuche. 554
 —, Standorte in der Natur. 430
 —, Stickstoffassimilation. 403
 —, stickstoffbindende, Biologie. 560

- Bakterien, thermophile, Bedeutung bei der bakteriologischen Wasseruntersuchung. 582
- , Tötungszeiten bei höheren Sauerstoffkonzentrationen. 386
- , Uebertragung durch Milben. 253
- , ultramikroskopische Untersuchung. 667
- , ultramikroskopische, Verhalten. 669
- , Ursache der Gärung des Mehlteiges. 513
- , Ursache der nachträglichen Blähungen in Emmenthalerkäsen. 526
- , Ursache der Reduktionswirkung der Milch. 742
- , Ursache des Sauerwerdens der Milch. 543
- , Variation. 535
- , Verarbeitung des atmosphärischen Stickstoffes. 557
- , Verderber von Gemüsekonserven. 489
- , Vergärung von Xylan. 556
- , Vernichtung in der Milch. 591
- , Vernichtung im Wasser durch Protozoen. 589
- , Vorkommen in Butter. 193
- , Vorkommen im Darne der Oelbaumfliegenlarve. 251
- , Vorkommen im Essig. 591
- , Vorkommen im Euter. 234
- , Vorkommen im Flaschenbier. 309
- , Vorkommen im Flußwasser. 229
- , Vorkommen in der Milch. 233. 234
- , Vorkommen in der Stuttgarter Markt- und Handelsbutter. 719. 776
- , Vorkommen im Talsperrenwasser. 230
- , Vorkommen im Trinkwasser großer Dampfer. 227
- , Vorkommen in Wurst. 226
- , Wachstum, Einfluß der Stoffwechselprodukte. 417. 609
- im Wasser, Wirkung von Wasserstoff-superoxyd. 269
- , Wirkung von Giften. 586
- , Wirkung von Schwefelkohlenstoff. 332
- der Wurzelknöllchen der Leguminosen. 540
- Bakterienerkrankung der Leguminosenfrüchte. 67
- Bakterienflora des Granakäses. 742
- der Milch, Klassifizierung. 741
- Bakteriologie, Einführung. 738
- Bakteroiden, Vorkommen an Leguminosenknöllchen. 142
- Baumwolle, aufsaugende, Verbreitung von *Pseudomonas radiceicola*. 539
- , Blattrostfleckenkrankheit. 760
- , geschädigt durch *Anthonomus grandis*. 755
- , Kräuselkrankheit. 758
- , Krankheiten. 758. 760
- , Schädlinge. 756. 757
- , Stengelbräune. 760
- Baumwollrüsselkäfer s. *Anthonomus grandis*.
- Bier, Einfluß von Metallen. 482
- , Flaschen-, Bakterienflora. 309
- Bierhefe s. Hefe, Bier.
- Bios, Eigenschaften. 111
- Blähungen in Emmenthalerkäsen, nachträgliche, Ursache. 526
- Blätter, Laub-, physiol. Leistungen bei Befallensein von Parasiten. 246
- Blüteninfektion bei Brandpilzen. 572
- Blutserum, Wirkung der proteolytischen Enzyme. 188
- Boden s. auch Acker.
- , Acker, Stickstoffgehalt. 560
- , bakteriologische Untersuchung, Methodik. 399
- , Bedeutung des Schwefelkohlenstoffes für seine Fruchtbarkeit. 329. 344
- , Bestimmung von Salpetersäure. 272
- , Klemmigkeit, Ursache. 563
- , Verlust an Stickstoff bei Düngung mit Chilisalpeter. 739
- Bodenbeschaffenheit, Einfluß der Düngung und des Pflanzenwuchses. 240
- Bodenkunde für Land- und Forstwirte. 556
- , mikrobiologische. 640. 703
- Bodo ovatus, Vernichtung der Typhusbacillen im Wasser. 589
- saltans, Vernichtung der Typhusbacillen im Wasser. 589
- Bomyx mori, Schlafsucht der Raupe. 529
- Botanik, Rolle in der Phytopathologie. 764
- Brandkrankheiten, Verbreitung. 572
- Brandpilze s. Pilze, Brand-.
- , Blüteninfektion. 572
- Brassica oleracea s. auch Kohl.
- —, Auswüchse. 748
- Brauerei, Desinfektionsmittel. 761
- Brennerei, Dickmais-, Anwendung des Formaldehyds. 524
- , Verwendung der Ameisensäure. 240
- Budde, Prozeß zur Milchkonservierung. 590
- Butter, bakteriologische Untersuchungen. 193
- , Keimzahlbestimmung. 724
- , Markt- und Handels-, Stuttgarter, bakteriologische Untersuchungen. 719. 776
- , Ranzigwerden, Ursache. 732. 776
- , rotfleckige, Ursache. 743
- Buttersäurebacillus s. *Bacillus*, Buttersäure.
- Buttersäurebakterien s. Bakterien, Buttersäure-.
- Buttersäuregärung, Ursache. 546
- Caecoma clematidis Thüm., Vorkommen in Australien. 735
- *Rosae gymnocarpae* n. sp. Dietel, Beschreibung. 747
- Callirhytis Marianii s. Fioria. 255
- Calosphaeria polyblasta Rom. et Sacc. = *Cesatiella polyblasta* (Rom. et Sacc.) v. Höhn. 745
- Calyptospora Goeppertiana Kühn, Infektionsversuche. 154
- Capnodium brasiliense n. sp., Ursache der „fumagine“ des Kaffeebaumes. 752
- Cecidien s. auch Gallen.

- Cecidie, Coleoptero-, auf *Salix caprea*. 578
 —, Diptero-, des Wachholders, anatom. Untersuchungen. 254
Cercospora Ononidis (Awld.) v. Höhn. = *Exosporium Ononidis* Auerwald. 745
Cercospora *Scorzoneræ* n. sp. auf *Scorzonera humilis*. 745
Cereus nycticalis Lk., Krankheit. 752
Cesatiella polyblasta (Rom. et Sacc.) v. Höhn. (*Calosphaeria polyblasta*) auf *Salix*. 745
Ceuthorrhynchus sulcicollis Gyll., Schädling des Blumenkohls. 529
Chaerocampa celerto L., Schädling der Baumwollkulturen. 758
Cheimatobia brumata L., Schädling der Kirschbäume. 529
Chermes abietis, Gallenbildung an Fichten. 750
 Chilisalpeter s. Salpeter, Chili.
Chionaspis Evonymi, Einfluß auf die Leistungen von *Evonymus japonicus*-Blättern. 246
 Chlorophyceen, Assimilation von elementarem Stickstoffe. 646
 Cholera, Verbreitung durch Milch. 543
Chondromyces apiculatus Thaxter, Morphologie und Biologie. 13. 31
 — *aurantiacus* Berkeley u. Curtis, Morphologie u. Biologie. 14
 — *catenulatus* Th., Morphologie. 14
 — *crocatus* Berkeley u. Curtis, Morphologie u. Biologie. 14
 — *erectus* (Schroeter) Zukal, Morphologie u. Biologie. 15
 — *gracilipes* Th., Morphologie u. Biologie. 15
 — *lichenicolus* Th., Morphologie u. Biologie. 15
 — *museorum* Th., Morphologie. 14
 — *pediculatus* Thaxter, Morphologie. 14
 — *serpens* Th., Morphologie. 16
 — *sessilis* Th., Morphologie. 14
 Chuño s. Kartoffeln, gefrorene. 564
Cladosporium butyri, Ursache d. Ranzigwerdens der Butter. 732
 Clostridien, Wirkung von Schwefelkohlenstoff. 338
Clostridium americanum n. sp. Pringsheim, Assimilation von Stickstoff. 795
 — *americanum* n. sp., Unterscheidung von *Clostridium Pasteurianum*. 796
 — *gelatinosum*, Bildung von Gallerte in den Säften von Zuckerfabriken. 236
 — *Pasteurianum*, Assimilation von Stickstoff. 796
 — —, Unterscheidung von *Clostridium americanum* n. sp. 796
 — *pastorianum*, Biologie. 560
Coccus vitis, Bekämpfung. 595
 Cochenille, Schädling des Weinstockes. 751
Cochylis ambiguella Hübn., Auftreten im Jahre 1905. 529
 — — —, Biologie. 579
Coepophagus, Schädling des Weinstockes. 751
Coffea, *Capnodium brasil.* u. *Limacinia coffeicola* als Ursache der „fumagine“. 752
 —, geschädigt durch *Xylotrechus* des Bambus. 253
 Coleopterocecidie, neue, auf *Salix caprea*. 578
Colletotrichum Agaves Cav., Schädling der *Agave utahensis*. 747
Coniophora cerebella (*Corticium putaneum*), Ernährung. 408
Coniosporium Arundinis = *Melanconicum sphaerospermum*. 745
Coniothyrium Hellebori C. et M. auf *Helleborus*. 745
 Corticieen, Vorkommen, Klassifizierung. 744
Corticium putaneum s. *Coniophora cerebella*.
 — *roseum* = *Xerocarpus polygonoides*. 744
Corynespora Mazei n. g. et sp. Güssow, Ursache einer Gurkenkrankheit. 752
Cronartium asclepiadeum Wirtswechsel. 568
 — *Jacksoniae* Mc Alp., Vorkommen in Australien. 735
Cuscuta europaea L., Schädling d. Zuckerrübe. 252
 Cyanophyceen, Assimilation von elementarem Stickstoff. 648. 703
Cylindrophoma Hennebergii s. *Macrophoma Hennebergii*. 248
Cystopus Lepigoni, Vorkommen in Italien. 250
 — *Portulacæ*, Einfluß auf die Leistungen von *Portulaca oleracea*-Blättern. 246
Dasyscypha calyciformis (Willd.), Biologie. 751
 — — —, Ursache d. Absterbens d. sibir. Tanne. 249
Dematium, Vorkommen in trübem Essig. 552
Denatophora necatrix, Bekämpfung. 595
Dendrodochium aeruginosum n. sp. auf *Fagus*-Holz. 745
 Denitrifikation. 739
 Desinfektion s. auch Sterilisierung.
 — der Fäkalien mit Didymchlorid. 272
 Desinfektionsmittel für den Brauereibetrieb. 761
Diaspis pentagona Tary., Schädling des Maulbeerbaumes. 529
 Diastase, Einfluß der Reaktion auf ihre Wirkung. 740
 Dickmaischbrennereien, Anwendung des Formaldehyds. 524
Didymaria graminella n. sp. auf *Brachypodium sylvaticum*. 746
Didymascina lignicola n. sp. auf *Caprinus Betulus*. 745
 — *salicicola* (All.) v. H. auf *Caprinus Betulus*. 735
 Didymchlorid, Wirkung auf die Pflanzenproduktion. 272
 Diphtherie, Verbreitung durch Milch. 543
 Dipterocecidien des Wachholders, anatom. Untersuchungen. 254
Dorytomus, Gallenbildung. 579

- Dothidella Buxi* n. sp. auf *Buxus sempervirens*. 745
 Düngung, Einfluß auf d. Bodenbeschaffenheit. 240
Dysdercus cardinalis Gerst., Schädling der Baumwollkulturen. 760
 — *fasciatus* Sign., Schädling der Baumwollkulturen. 757. 759
 — *superstitiosus* F., Schädling der Baumwollkulturen. 757. 759
 — *suturrellus* H. Sch., geographische Verbreitung. 755
 Eiche s. auch *Quercus*.
 Eichen, schwarze, geschädigt durch *Polyporus obtusus*. 577
 Eichhörnchen, Schädling der Fichten. 258
 Eiweiß, Bedeutung im Hefeleben. 524
 Emmenthalerkäse, s. Käse, Emmenthaler-
 Endophyten, Rolle bei der Keimung der Orchideen. 245
 Entomologie, landwirtschaftliche. 578
Entomophthora, Feind d. Raupe von *Ocnogyna baeticum* Ramb. 257
Entyloma Chrysoplenii s. *Exobasidium Schinzianum* P. Magn. 745
 Enzym der Milchsäurebakterien. 545
 — für Zymase. 232
 Enzyme, Einteilung, Wirkung, Benennung. 221
 — der Milch. 741
 —, Nachweis in Mikroorganismen. 530
 —, proteolytische, Nachweis. 176
 — d. Tabakpflanze, Ursache d. Mosaikkrankheit. 569
Eriophyes carlinae n. sp. auf *Carlina* (*Atractylis*) *gummifera* Less. 256
 Erysiphaceen, Infektionsversuche. 572
 —, Vorkommen in Japan. 246
Erysiphe graminis, Infektionsversuche. 572
 — *Pisi* DC. var. *Desmodii* P. Henn., Identität mit *Erysiphe Polygoni* DC. 247
 — — —, Identität mit *Erysiphe Pisi* DC. var. *Desmodii* P. Henn. 247
 Essig, lagernder, Ursache seiner Veränderungen. 591
 —, —, Vorkommen von Organismen. 591
 —, zur Pasteurisierung erforderliche Temperaturen. 592
 Essigal, Vorkommen im Essig, Widerstandsfähigkeit. 592
 Essigbakterien, Oxydase. 525
 Essigfabrik, Schnell-, bakteriol. Untersuchungen. 551
 Eumyceten, chemische Bestandteile. 219
 —, Morphologie, Entwicklung, Systematik. 218
 —, Physiologie. 222
Eurychasma Dicksonii (Wright) P. Magn. s. *Rhizophydium Dicksonii* Wright. 247
 Euter, Vorkommen von Bakterien. 234
Evonymus japonicus, Ursache des „Mehltaues“ oder des „mal bianco“. 251
Exidiopsis cystidiophora n. sp., Vorkommen. 744
Exoasci, neue Species. 248
Exoascus deformans, Einfluß auf die Leistungen von *Persica vulgaris*-Blättern. 246
Exobasidium Schinzianum P. Magn., Sporengeneration des *Entyloma Chrysoplenii*. 745
Exosporium Ononidis Auerwald, Diagnose, Nomenklatur. 745
 Fäkalien, Desinfektion mit Didymchlorid. 272
 Färben, gleichzeitiges, von 12 Objektträgern. 191
 Fäulnisbacillen s. Bacillen, Fäulnis-
 Fäulnisbakterien, s. Bakterien, Fäulnis-
 Fäulnis, Wirkung von Schwefelkohlenstoff. 337
 Farbstoff s. auch Pigment.
 —, bakterieller, Biochemie. 737
 —, Bildung durch *Bacterium butyri rubrum*. 743
 —, Bildung durch Bakterien. 222
 —, Bildung durch Myxobakterien. 23. 31
 —, Bindung durch Hefe. 237
 Ferment, Lab- von *Ficus Carica*. 1
 Fette, Zersetzung. 488
 Fichte, geschädigt durch Eichhörnchen. 258
 —, geschädigt durch *Gryllotalpa vulgaris*. 257
 Fichtenborkenkäfer s. *Tomicus typographus* L. 581
Ficus Carica, Labferment. 1
Fioria n. gen., Beschreibung. 255
Fioriella s. *Fioria*. 256
 Fliege, Oelbaum-, Vorkommen von Bakterien im Darm der Larve. 251
 Flüssigkeiten, gärende, Einfluß von Metallen. 482
 Flugbrand, Blüteninfektion des Getreides. 249
 Flußwasser s. Wasser, Fluß-
 Formaldehyd s. auch Formalin.
 —, Anwendung in Dickmaischbrennereien. 524
 —, Desinfektionsmittel für den Brauereibetrieb. 761
 —, Wirkung auf Bakterien. 233
 Formalin, Nachweis in der Milch. 272. 763
 — zur Milchkonservierung. 500
 Frostspanner s. *Cheimatobia brunata* L. 529
Fucus digitatus, Bindung von Jod. 238
Fusarium Vogelii Henn. = *Phleospora Robiniae* Desmaz. 745
Fusicladium heterosporum n. sp. auf *Epilobium parviflorum*. 745
 — *pirinum* Fuckl., Schädling der Birnbäume. 529
Fusoma biseptatum Sacc. auf *Calamagrostis*. 746
 — *triseptatum* Sacc. auf *Calamagrostis*. 746
 Gärung, Alkohol-, der Milch. 547
 —, Buttersäure, Ursache. 546
 — des Mehlteiges, Ursache. 513
 — der Milch. 543
 — — —, beteiligte Bakterien. 538
 — — —, Wesen. 549
 —, Pektin-. 215

- Gärung, Wesen und Ursache. 217
 Gärungserreger der Milch, bewegliche und unbewegliche aërobie, Biologie. 654. 711
 Galaktase, Vorkommen in der Milch. 548
 Gallen s. auch Cecidien, Aphido-, Diptero-, Lepidoptero-, etc. 578
 — an Fichten, durch *Chermes abietis* verursacht. 750
 — auf *Juniperus*-Arten, anatomische Untersuchungen. 254
 — von *Juniperus Oxycedrus* L., Veränderungen in den Blättern. 253
 Gallertbildungen in den Säften der Zuckerrfabriken. 236
 Gallmilben s. auch Milben. 256
 —, neue. 256
 Gelatine, Wirkung der proteolytischen Enzyme. 177
 Gelechia, Schädling der Baumwollkulturen. 756. 757
 Gemüsekonserven, Verderber. 489
 Gerinnung der Milch durch *Sycochymase*. 1
 Gerst-, Infektion mit *Ustilago hordei*. 574
 —, Ursache der Selbsterhitzung. 242
 Getreide, Blüteninfektion durch Flugbrand. 249
 Gift, zur Tötung lebender Substanz notwendige Menge. 583
 Gifte, Wirkungen auf lebende Zellen. 259
 —, Wirkung, quantitative. 585
 Granakäse s. Käse, Grana-
 (*Granulobacillus saccharobutyricus immobilis liquefaciens*, Vorkommen im Käse. 53
 — — *mobilis non liquefaciens*, Vorkommen im Käse. 53
Granulobacter-Art, Widerstandsfähigkeit verschiedener Kartoffelsorten. 571
 Granuloseorganismen, Wirkung von Schwefelkohlenstoff. 338
Gryllotalpa vulgaris Latr., Schädling der Fichte. 257
 Gurken, *Corynespora Mazei* als Krankheitsursache. 752
Gymnosporangium Sabinæ Wtr., Ursache des Gitterrostes der Birnblätter. 750
 Hafer, Infektion mit Brandpilzen. 574
Haplobasidium pavoninum n. sp. v. H. auf *Aquilegia vulgaris*. 746
Harpographium pallescens (Fckl.) P. Magn. s. *Stysanus pallescens* Fckl. 247
 — *Volkartianum* P. Magn. n. sp. auf *Potentilla aurea*. 247
 Harzrüsselkäfer s. *Pissodes harcyniæ* Hbst. 754
 Hederich, Wirkung auf die Nitrifikation der Ackererde. 358
 Hefe, Aufspeicherung von Kupfer. 240
 —, Bier-, obergärige, chemisch-physiologische Eigenschaften. 475
 —, —, —, Dauerzellen. 447
 —, —, —, Hautbildung. 302. 438
 —, —, —, Morphologie der Zellen. 292
 —, —, —, Sporenbildung. 298
 —, —, —, Untersuchungen. 289. 438
 Hefe, Bier-, obergärige, Wachstum der Riesenkolonien. 461
 —, —, —, Wachstum der Zellen in Einzelkolonien. 459
 —, —, —, Wachstumsform auf festem Nährboden. 457
 —, Bindung von Farbstoffen und Metallsalzen. 237
 —, Gewöhnung an gezuckerte Mineralsalznährlösungen. 111
 —, Kahl-, Vorkommen im Essig, Widerstandsfähigkeit. 592
 —, —, Wirkung von Essigsäure. 555
 —, Laktose zerlegend, Ursache von Störungen in der Käsebildung. 535
 —, Nachweis von Enzymen. 530
 —, Schwefelwasserstoffbildung. 303
 —, Ursache der Teiggärung. 522
 —, Wachstum in mineralischer Nährlösung. 239
 —, Wirkung von Giften. 588
 —, Wirkung von Schwefelsäure. 585
 Hefen, Anomalous-. 97
 —, Obstwein-, Gärversuche. 40
 —, —, Riesenkolonien. 39
 —, —, Sporenbildung. 39
 —, —, Systematik. 36
 —, —, Verhalten in Strichkulturen. 38
 Hefeleben, Bedeutung des Eiweißes. 524
 Hefepreßsaft, Versuche. 531
 Hefezelle, Kern. 635
 Helianthin als Indikator der Reaktion von Verzuckerungsflüssigkeiten. 740
Helicosporium Phragmitis n. sp. auf *Phragmites communis*. 745
Helix pomatia, Bekämpfung. 595
Hendersonia Alyssi n. sp. auf *Alyssum corsicum*. 745
Heterodera radicola Müller, Schädling der Erbsenpflanzen. 750
 Heu, Ursache der Selbsterhitzung. 241
 Heuschrecke, Wander-, Schädling der Baumwollkulturen. 757
 Hirse s. a. *Sorghum*.
 —, Kolben-, Infektion mit *Ustilago Setariae*. 575
 —, Mohren-, Infektion mit *Ustilago sorghi*. 575
 —, Rispen-, Infektion mit *Ustilago Paniciliacei* (*destruens*). 575
 Holz, Zerstörung durch Pilze. 216
Hyalospora Polypodii Dryopteridis (Mong. et Nest) Magnus, Infektionsversuche. 156
Hypochnus muscorum Schröter = *Peniophora muscorum* (Schröter) v. Höhnel. 744
 Immunität von Weizen, Versuche mit *Puccinia glumarum*. 565
 Indol, Bildung durch Bakterien. 539
 Infektion, Blüten-, bei Brandpilzen. 572
 Infusorien, Vorkommen in trübem Essig. 552
 —, Wirkung von Giften. 586
 —, Wirkung verdünnter Giftlösungen. 263
 Intumeszenzen der Baumrinde unter Flechten, Ursache. 753

- Intumescenzen an *Cereus nycticalis* Lk.,
 Ursache. 752
 —, durch chemische Reize verursacht. 753
Ipomoea Batatas, Anschwellungen der Blätter. 752
Isariopsis pusilla Fresen. auf *Cerastium*. 248
 Isolierung von nitrifizierenden Mikroorganismen. 258
Juniperus-Arten, anatomische Untersuchungen. 254
Juniperus communis, Gallen. 578
 — *Oxycedrus* L., histologische Veränderungen der Blätter in den Gallen. 253
 — *Sabina*, Gallen. 578
 Käse, Emmentaler, nachträgliche Blähungen. 526
 —, Grana-, Bakterienflora. 742
 —, Reifung, Rolle der anaeroben Fäulnisbacillen. 52
 —, Vorkommen säurelab-bildender Bakterien bei der Reife. 236
 Käsebildung, Störungen durch Laktose zerlegende Hefe verursacht. 535
 Käseuntersuchung durch mikroskopische Schnittpräparate, Methode. 66
 Kaffeebaum s. *Coffea*.
 Kartoffeln, gefrorene (*Chuño*), Untersuchungen. 564
 —, Widerstandsfähigkeit gegen Fäulnisbakterien. 570
 —, Zerstörung durch Milben. 253
 Kasease, Vorkommen in der Milch. 548
 Kasein, Abbau. 547
 —, Einwirkung von Milchsäure. 548
 Kastanien, Veränderungen durch *Penicillium glaucum*. 250
 Katalase (Superoxydase) in der Milch, Unterscheidung von Reduktase. 741
 Kefir. 547
 Keimung der Uredosporen. 565
 Kern bei Bakterien. 617
 — der *Saccharomycetazelle*. 635
 Kieferschütte, Bekämpfung. 273
 Kleemüdigkeit des Bodens, Ursache. 563
Kneiffia tomentella Bres. = *Hypochnus muscorum* Schröter. 744
 Kohl s. a. *Brassica oleracea*.
 —, Blumen-, geschädigt durch *Peronospora parasitica*. 750
 —, —, Intumescenzen durch chemische Reize verursacht. 753
 —, — und Kopf-, durch *Sclerotinia Libertiana* Fuckel geschädigt. 747
 —, geschädigt durch *Bacillus brassicaevorus*. 747
 Kohlenoxyd, Verhalten des *Bac. oligocarbophilus*. 769
 Kohlensäureassimilation, Betrachtungen. 771
 Konserven, Gemüse-, Bakterien als Ursache des Verderbens. 489
 Konservierung s. a. Sterilisierung.
 — der Milch durch Wasserstoffsuperoxyd. 271
 Krankheit, Mosaik-, der Tabakspflanze, Ursache. 568
 Krankheiten, Brand-, Verbreitung. 572
 —, Pflanzen-, Beziehungen der Bakterien. 566
 Krankheitserreger, Standorte in der Natur. 430
 Kristallbildung in Kulturen denitrifizierender Bakterien. 326
 Kugelbildung der Bakterien. 541
 Kulturpflanzen, landwirtschaftliche, Krankheiten und Schädlinge. 750
 Kumys. 547
 Kupfer, Verhalten gegen Zellen niederer Pflanzen. 267
 Kupferbrühe, Adhärenz. 593
 Laboratorien, Einrichtung. 540
 Labferment von *Ficus Carica*. 1
 Laktose, Spaltung durch Hefe. 535
 Leguminosen, Bakterien der Wurzelknöllchen. 540
 — Symbiose mit Mikroorganismen. 148
 Leguminosenfrüchte, Bakterienerkrankung. 67
 Leguminosenknöllchen, Anzahl, Form und Lage. 131
 —, Bildung der Bakteroiden. 142
 —, Degenerationsvorgänge. 147
 —, infizierender Organismus. 138
 —, mikroskopische Anatomie. 135
 —, Verteilung der Stärke. 136
 Lepidopteroecidie auf *Scabiosa columbaria* L., anatomische Untersuchung. 254
Leptomitus lacteus, Rolle bei der Selbstreinigung des Wassers. 271
Leptosphaeria tritici (Gib.) Pass., Verbindung mit *Septoria graminum*. 248
Leuconostoc mesenterioides s. *Streptococcus mesenterioides*.
 Leukocyten, Bestimmung in der Milch. 537
Liebelia n. gen., Gallenbildung auf *Rosa Seraphini*. 255
Limacinia coffeicola n. sp., Ursache der „fumagine“ des Kaffeebaumes. 752
 Lösungen, stark verdünnte, Wirkung auf lebende Zellen. 259
 Luftstickstoff, Verarbeitung durch niedere pflanzliche Organismen. 642
 Lysol zur Vernichtung des Winteres von *Phylloxera*. 764
Macrophoma dalmatica (Thüm.) Berl. et Vogl., Schädling der Oliven. 751
 — (*Cylindrophoma*) *Hennebergii* (Kühne) Berl. et Vogt, Identität mit *Septoria glumarum* Pass. 248
Macrosiphum alliariae auf *Lampsana communis*, Gallenbildung. 255
 Mais, Infektion mit *Ustilago Maydis*. 575
Marsonia Rosae, Einfluß auf die Leistungen von Rosenblättern. 246
Massaria galeata n. sp., Beschreibung. 746
 Maulwurfsgrille s. *Gryllotalpa vulgaris*. 257
 Mazun. 547
 Mehlteig, Gärung. 513
Melampsora Evonymi-Incanae nov. f. sp., Infektionsversuche mit *Caecoma*- und Uredosporen. 90

- Melampsora Evonymi-Incanae* nov. f. sp., Infektionsversuche mit Teleutosporen. 89
- *hypericorum* (DC.) Schröt., Vorkommen in Australien. 735
- *Larici-Capraearum* Kleb., Infektionsversuche. 161
- *Larici-Nigricantis* nov. f. sp., Infektionsversuche mit *Caeoma*- und Uredosporen. 79
- — —, Infektionsversuche mit Teleutosporen. 77
- *Larici-Purpureae* nov. f. sp., Infektionsversuche mit *Caeoma*- und Uredosporen. 82
- — —, Infektionsversuche mit Teleutosporen. 81
- *Larici-Reticulatae* nov. f. sp., Infektionsversuche mit *Caeoma*- und Uredosporen. 86
- — —, Infektionsversuche mit Teleutosporen. 85
- *Larici-Retusae* f. sp. Ed. Fischer, Infektionsversuche. 164
- *lini* (Pers.) Tul., Vorkommen in Australien. 735
- *Ribesii-Grandifoliae* nov. f. sp., Infektionsversuche mit *Caeoma*- und Uredosporen. 160
- — —, Infektionsversuche mit Teleutosporen. 92
- Melampsorella Symphyti* (DC.) Bubák, Infektionsversuche. 155
- Melanconicum sphaerospermum* (P.) Link, Beschreibung. 745
- Melandryum album*, Infektion mit Brandpilzen. 575
- „Meltau“ des *Evonym. japon.*, Ursache. 251
- Merulius lacrimans*, Ernährung. 406
- —, Zerstörung von Holz. 217
- Metalle, Einfluß auf gärende Flüssigkeiten. 482
- , Giftwirkung, quantitative. 586
- der Kupfergruppe, Verhalten gegen Zellen niederer Pflanzen. 267
- Lösungen, Wirkung auf lebende Zellen. 259
- Metallsalze, Bindung durch Hefe. 237
- Micrococcus casei amari*, Schädling des Molkereibetriebes. 731
- *cerasinus*, Vorkommen in der Butter. 778
- *excavatus*, Vorkommen in Wurst. 226
- *Freudenreichi*, Schädling des Molkereibetriebes. 731
- *mycoides roseus*, Farbstoffbildung. 738
- *prodigiosus*, Schädling des Molkereibetriebes. 731
- *pyogenes aureus* in der Milch, Wirkung des Budde-Prozesses. 591
- *roseus*, Farbstoffbildung. 738
- —, Vorkommen in der Butter. 778
- *Sornthalii*, Schädling des Molkereibetriebes. 731
- Micrococcus sulfureus*, Vorkommen in der Butter. 778
- Microsphaera Euphorbiae* (Peck) Berk. et Curt., Vorkommen in Japan. 246
- Microspira Comma*, ultramikroskopische Untersuchungen. 669
- *Metschnikoffi*, ultramikroskopische Untersuchungen. 668
- Mikroorganismen, Einfluß auf die Bodenbeschaffenheit. 240
- , auf dem Malz lebende, Tötungstemperatur. 761
- , Nachweis von Enzymen. 530
- , nitrifizierende, Isolierung. 258
- , Oxydation des Wasserstoffes. 681. 769
- , Rolle bei der Selbsterhitzung des Heues. 241
- , Rolle bei der Selbstreinigung des Wassers. 271
- , Standorte in der Natur. 430
- , Verarbeitung des atmosphärischen Stickstoffes. 557
- , Vorkommen im Essig. 591
- , Vorkommen im Talsperrenwasser. 230
- , Wirkung von Giften. 586
- , Wirkung von Schwefelkohlenstoff. 332
- , Wirkung verdünnter Giftlösungen. 263
- , Zersetzung der Baustoffe der Pflanzenzellwände. 213
- Milben, Zerstörung von Kartoffeln. 253
- Milch, Abbau des Kaseins. 547
- , Alkoholgärung. 547
- , Apparat zum Kochen oder Pasteurisieren. 763
- , bakterizide Wirkung. 234. 542
- , Bakterien als Ursache des Sauerwerdens. 543
- , Bakterienflora, Klassifizierung. 741
- , Bestimmung von Leukocyten. 537
- , Gärung. 543. 549
- , Gärungserreger, bewegliche und unbewegliche aërobe, Biologie. 654. 711
- , Gerinnung durch *Sycochymase*. 1
- , Herkunft der Bakterien. 541
- , hygienische Untersuchungen. 232
- , Konservierung nach Budde (mittels H_2O_2). 590
- , Konservierung durch Formalin. 590
- , Konservierung durch Wasserstoffsuperoxyd. 271
- , Kuh-, Reduktasen. 741
- , Nachweis von Formalin. 763
- , beim Sauerwerden beteiligte Bakterien. 538
- , Schätzung der Bakterien. 537
- , Verbreitung von Krankheiten. 542
- , Verhalten zu fuchsinschwefliger Säure. 272
- , Verkauf und Genuß, Vorschriften des 2. internationalen Kongresses in Paris. 213
- , Viskosität. 551
- , Vorkommen von Bakterien. 233. 234
- , Vorkommen und Verbreitung der Milchsäurebakterien außerhalb derselben. 550
- , Vorkommen von mit β -Naphthalinsulfo-

- chlorid reagierenden Körpern im Serum. 235
- Milch, Widerstandsfähigkeit der pathogenen Bakterien gegen verschiedene Temperaturen. 233
- , Wirkung des Formaldehyds auf d. M. und die Milchkulturen. 234
- Milchbakterien s. Bakterien, Milch-
- Milchchampagner. 547
- Milchsäure, Einwirkung auf Kasein und Parakasein. 548
- Milchsäurebakterien s. Bakterien, Milchsäure-
- Milchzucker s. Laktose.
- Milzbrand, Verbreitung durch Milch. 543
- Mindarus abietinus auf Abies nordmanniana, Gallenbildung. 255
- Molkenchampagner. 547
- Mosaikkrankheit der Tabakspflanze, Ursache. 568
- Mucor, Spaltung des Butterfettes. 733. 776
- corymbifer, Standort in der Natur. 435
- pusillus, Standort in der Natur. 435
- racemosus, Rolle bei der Selbsterhitzung des Heues. 245
- rhizopodiformis, Standort in der Natur. 435
- stolonifer, Protoplasmaströmung. 744
- Mucorineen, Protoplasmaströmung. 743
- Mycoderma vini, Kern. 636
- Will, Schwefelwasserstoffbildung. 305. 307
- Mykologie, Geschichte. 565
- , technische, Handbuch. 213. 217. 541
- Mykoplasmahypothese, Erikssonsche, Bekämpfung. 565
- Myxobakterien, Entwicklung des Cystophors. 31
- , Farbstoffbildung. 23. 31
- , formative Beeinflussungen durch Nährböden. 29
- , Intensität des Wachstums. 24
- , Keimung der Sporen. 26
- , Nährböden. 28
- , Vorkommen und Verbreitung. 9
- , Wirkung der Temperatur. 23. 30
- Myxococcus cirrhosus Th., Morphologie. 18
- clavatus n. sp. Quehl, Morphologie. 18
- coralloides Th., Morphologie. 18
- cruentus Th., Morphologie. 18
- digitatus n. sp. Quehl, Morphologie. 18
- disciformis Th., Morphologie. 19
- ruber Baur s. Myxococcus rubescens Th.
- rubescens, Keimung der Sporen. 27
- — Th. (Myxococcus ruber Baur), Morphologie. 18
- — —, Wachstum. 28
- stipitatus Th., Morphologie. 18
- virescens Th., Morphologie. 18
- — —, Wachstum. 29
- Myxomycetenkultur, ultramikroskopische Untersuchungen der in ihr vorhandenen Bakterien. 669
- Nährböden, Bildung aus chemisch genau bekannten Stoffen. 737
- Nematoden, Vertilgung durch Schwefelkohlenstoff. 594
- Nerium Oleander, Tuberkelkrankheit. 250
- Neutralgrünlösung, Adhärenz. 593
- Nitrifikation, Bedeutung für die Kulturpflanzen. 241
- der Ackererde, Wirkung des Hederichs. 358
- , Wirkung von Schwefelkohlenstoff. 334
- Nostoc, Assimilation von elementarem Stickstoff. 653. 703
- Objektträgerkorb zum Färben von 12 Objektträgern. 191
- Obstweihen s. Hefen-, Obstwein-
- Ocnogyna baeticum Bamb., Biologie. 256
- Oelbaumtliege s. Fliege, Oelbaum-. 251
- Oligotrophus juniperinus, Gallenbildung auf Juniperus communis. 578
- Sabinae, Gallenbildung auf Juniperus. 254
- Oliven, geschädigt durch Macrophoma dalmatica. 751
- Oidium, Rolle bei der Selbsterhitzung des Heues. 243
- Cydoniae, Einfluß auf die Leistungen von Cydonia japonica-Blättern. 246
- Evonymi japonici, Ursache des „Mehltaus“ des Evon. japon. 251
- lactis, Ursache des Ranzigwerdens der Butter. 732
- —, Vorkommen in der Butter. 778
- leucoconium, Einfluß auf die Leistungen von Evonymus japonicus-Blättern. 246
- Tuckeri, Auftreten im Jahre 1905. 529
- —, Bekämpfung. 595
- —, Ueberwinterung. 751
- Orchideen, Rolle der Endophyten bei der Keimung. 245
- Orneodes hexadactyla Hübner s. Orneodes Hübneri. 255
- (Alucita) Hübneri Wallgr., Gallenbildung auf Scabiosa columbaria. 255
- Otiorynchus sulcatus, Bekämpfung. 595
- Ovularia, Zusammenhang mit einigen Stilbeem. 247
- Stellariae (Rabenh.) Sacc., s. Harpoglyphium pallescens (Fckl.) P. Magn. 247
- Oxycareus hyalinipennis, Schädling der Baumwollkulturen. 757
- Oxydase der Essigbakterien. 525
- Oxydation des Wasserstoffes durch Mikroorganismen. 681. 769
- Padina paronia, Bindung von Mangan. 238
- Paraffin, Zersetzung durch einen Schimmelpilz. 382
- Parakasein, Einwirkung von Milchsäure. 548
- Parasitologie, landwirtschaftliche. 578
- Pasteurisieren des Essigs, erforderliche Temperaturen. 592
- der Milch, Apparat. 763
- Patellea pseudosanguinea Rehm. 745
- Pathologie, Physio-, der Pflanzen. 246
- Pediculoides ventricosus J. Ac., Feind des Anthonomus grandis. 756
- Pektingärung. 215

- Penicillium*, Zersetzung von Paraffin. 382
 — *glaucum* in der Milch, Wirkung des Budde-Prozesses. 591
 — —, Rolle bei der Selbstreinigung des Wassers. 271
 — —, Saprophyt auf Kastanien. 250
 — —, Spaltung des Butterfettes. 733. 776
 — —, Wachstum bei Gegenwart von Essigsäure. 555
Peniophora longispora (Pat.), Vorkommen in Tunis. 744
 — *muscorum* (Schröter) v. Höhnel = *Hypochnus muscorum* Schröter. 744
Peridermium Pini (Willd.) f. *corticola*, Infektionsversuche. 151
Peronospora parasitica De Bary, Schädling des Blumenkohles. 750
 — *viticola*, Auftreten im Jahre 1905. 529
 — —, Bekämpfung. 595
 Pflanzen, Kultur-, Nitrifikation. 241
 —, niedere, Verarbeitung des Luftstickstoffes. 642. 703
 —, —, Verhalten gegen Metalle der Kupfergruppe. 267
 —, —, Wirkung von Schwefelkohlenstoff. 329
 —, Wasser-, Infektion mit Brandpilzen. 577
 Pflanzenkrankheiten. 529
 —, Beziehungen der Bakterien. 565
 Pflanzenschädlinge. 529
 Pflanzenschutz, Einrichtungen. 763
 Pflanzenwuchs, Einfluß auf die Bodenbeschaffenheit. 240
 Pflanzenzellwände, Zersetzung ihrer Baustoffe. 213
Phialea atrosanguinea (Fuckel) v. Höhn. = *Tapesia atrosanguinea* Fuckel. 745
Phleospora Robiniae (Desm.) v. Höhn. = *Ascochyta Robiniae* Lib., *Septoria Robiniae* Desmaz., *Fusarium Vogelii* Henn. 745
 — — — —, Ursache der Blattfleckenkrankheit bei Robinia. 745
Phonoctonus fasciatus P. B., Vorkommen in Ostafrika. 760
Phragmidium, neue Arten. 746
 — *affine* Syd. s. *Phragmidium Fragariastris*. 747
 — *americanum* (Pk.) n. sp. Dietel auf *Rosa blanda*. 746
 — *Barnardi* Plowr. et Wint., Vorkommen in Australien. 735
 — *Fragariastris* auf *Potentilla*. 747
 — *gracile* (Farl.) Arth., Beschreibung. 747
 — *Jonesii* n. sp. Dietel auf *Ivesia Baileyi*. 746
 — *longissimum* Thüm., Vorkommen in Australien. 735
 — *potentillae* (Pers.) Karst., Vorkommen in Australien. 736
 — *Rosae arkansanae* n. sp. Dietel, Beschreibung. 746
 — — *californicae* n. sp. Dietel, Vorkommen in Kalifornien. 746
 — — *lacerantis* n. sp. Dietel, Beschreibung. 746
Phragmidium Rosae moschatae n. sp. Dietel, Beschreibung. 746
 — — *multiflorae* n. sp. Dietel, Beschreibung. 746
 — — *pimpinellifoliae* (Rabh.) n. sp. Dietel, Beschreibung. 746
 — — *setigerae* n. sp. Dietel auf *R. setigera* und *R. carolina*. 746
 — *Rubi odorati* n. sp. Dietel, Beschreibung. 746
 — *subcorticium*, Einfluß auf die Leistungen von Rosenblättern. 246
 — — auf Rosen. 746
 — — (Schrnk.) Wint., Vorkommen in Australien. 735
 — *tuberculatum* J. Müller auf Rosen. 746
Phragmitis communis, Infektion mit *Ustilago grandis*. 575
 — *nitens*, Protoplasmaströmung. 744
Phyllosticta fragaricola Desm., Ursache der Blattfleckenkrankheit der Erdbeere. 750
Phylloxera vastatrix, Bekämpfung. 595
 — —, Schädling des Weinstockes. 751
 — —, Winterer, Vernichtung durch Lysol. 764
 Physiopathologie der Pflanzen. 246
 Phytopathologie, Rolle der Botanik. 764
 —, Rolle der Zoologie. 753
Phytophthora infestans de By., Schädling der Kartoffeln und Paradiesäpfel. 529
Phytoptus vitis, Einfluß auf die Leistungen von *Vitis vinifera*-Blättern. 246
 — — L., Ursache der Filzkrankheit des Weinstockes. 750
Pichia membranaefaciens, Schwefelwasserstoffbildung. 305
 Pigment s. Farbstoff.
 Pilze, Brand-, Blüteninfektion. 572
 — —, Infektion von *Melandryum album*. 575
 —, endophytische, Rolle bei der Keimung der Orchideen. 245
 —, holzerstörende, Ernährung. 405
 —, parasitische, Einfluß auf die physiologischen Leistungen von Laubblättern. 246
 —, —, Wirtswechsel. 567
 —, Parasitismus. 565
 —, Rost-, Einfluß auf die physiologischen Leistungen von Roggen, Weizen und Hafer. 246
 —, —, Vorkommen in Australien. 733
 —, Zerstörung des Holzes. 216
Pissodes harcyniae Hbst., Verhalten der Fichten. 754
 — *notatus* Fabr., Unterscheidung von *Pissodes validirostris* Gyll. 755
 Plasmaeiweiß, Wirkung von Giften. 584
Plasmopara viticola, Einfluß auf die Leistungen von *Vitis vinifera*-Blättern. 246
 Plasmoptyse der Bakterien. 541
 Plectridien, Wirkung von Schwefelkohlenstoff. 338
Pleospora Mori Pass., Schädling des Maulbeerbaumes. 529

- Plodia interpunctella* Hw., Raupe, Beschreibung. 256
Poa aquatica, Infektion mit *Ustilago longissima*. 575
Polyangium compositum Th., Morphologie. 17
 — *fuscum* (Schröter) Zukal, Morphologie und Biologie. 16. 28
 — *primigenium* n. sp. Quehl, Morphologie und Biologie. 16
 — *septatum* Th., Morphologie. 17
 — *simplex* Th., Morphologie. 17
 — *sorediatum* Th., Morphologie und Biologie. 17
 — *vitellinum* Link, Morphologie und Biologie. 17
Polyporus obtusus Berk., Schädling der schwarzen Eichen. 577
 — *vaporarius*, Zerstörung von Holz. 217
 Preßsaft, Hefe-, Versuche. 531
Prionoxystus robiniae Berk., Schädling der schwarzen Eichen. 577
Proteus vulgaris, Wirkung von Schwefelkohlenstoff. 337
 Protoplasmaströmung bei Mucorineen. 743
 Protozoen, Vernichtung der Bakterien im Wasser. 589
Pseudomonas cerevisiae n. sp. Fuhrmann, Vorkommen im Flaschenbiere. 309
 — —, Wachstum auf anorganischen Nährlösungen mit besonderen N- und C-Quellen. 319
 — —, Wachstum auf Bouillon mit verschiedenem Alkoholgehalt. 320
 — —, Wachstum auf Chlorammoniumnährlösung. 321
 — —, Wachstum auf festen Nährsubstraten. 310
 — —, Wachstum auf flüssigen Nährsubstraten. 314
 — —, Wachstum auf verschieden alkalischer Gelatine und Nährbouillon. 316
 — —, Wachstum bei verschiedenen Temperaturen. 315
 — *coli* = *Bacillus coli*. 719
 — —, Diagnose. 719
 — —, Ursache des Stallgeruches der Milch. 719
 — *porrettana* n. sp. Corsini, Vorkommen im Wasser von Porretta. 228
 — *radicicola*, Verbreitung durch absorbierende Baumwolle. 539
 — *Sesami* n. sp. Malkoff, Biologie und Morphologie. 664
Ptomaine. 221
Puccinia angustifoliae Mc Alpine, Vorkommen in Australien. 734
 — *argentata* (Schultz) Winter, Infektionsversuche. 150
 — *Astrantiae vivipari* Sem. n. sp., Infektionsversuche. 385
 — *brachycomes* Mc Alp., Vorkommen in Australien. 734
 — *calendulae* Mc Alp., Vorkommen in Australien. 734
Puccinia calocephali Mc Alp., Vorkommen in Australien. 734
 — *calotidis* Mc Alp., Vorkommen in Australien. 734
 — *chrysanthemi* Roze, Vorkommen in Australien. 734
 — *cichorii* (DC.) Bell., Vorkommen in Australien. 734
 — *cinerariae* Mc Alp., Vorkommen in Australien. 734
 — *cyani* (Schleich) Pass., Vorkommen in Australien. 734
 — *distincta* Mc Alp., Vorkommen in Australien. 734
 — *erechthis* Mc Alp., Vorkommen in Australien. 734
 — *festucae* Plowr., Vorkommen in Australien. 736
 — *Galii* s. *Puccinia punctata* Link. 153
 — — *silvatici* Otth., Infektionsversuche. 154
 — *gnaphalii* (Speg.) P. Henn., Vorkommen in Australien. 734
 — *graminis* Pers., Vorkommen in Australien. 736
 — *helianthi* Schw., Vorkommen in Australien. 734
 — *hypochoeridis* Oud., Vorkommen in Australien. 734
 — *Kalchbrenneri* De Toni, Vorkommen in Australien. 734
 — *lagenophorae* Cke. (Pucc. Mc Alpini Syd.), Vorkommen in Australien. 734
 — *Malvacearum*, Einfluß auf die Leistungen von *Althaea rosea*-Blättern. 246
 — *Mc Alpini* Syd. = *Puccinia lagenophorae* Cke. 734
 — *oleariae* Mc Alp., Vorkommen in Australien. 734
 — *perplexans* Plowr., Vorkommen in Australien. 736
 — *podolepidis* Mc Alp., Vorkommen in Australien. 734
 — *Polygoni amphibii* Pers., Infektionsversuche. 152
 — *prenanthis* (Pers.) Lindr., Vorkommen in Australien. 734
 — *punctata* Link, Infektionsversuche. 153
 — *tasmanica* Diet., Vorkommen in Australien. 734
 — *Violae*, Einfluß auf die Leistungen von *Viola odorata*-Blättern. 246
 — *vittadiniae* Mc Alp., Vorkommen in Australien. 734
Pucciniastrum Chamaenerii Rostrup, Infektionsversuche. 155
 — *Circaeae* (Schum.) Schroeter, Infektionsversuche. 158
 — *Epilobii* (Pers.) Otth., Infektionsversuche. 159
Pyralis vitana, Bekämpfung. 595
 Quecksilber, Verhalten gegen Zellen niederer Pflanzen. 267
Quercus s. auch Eiche.
Ramularia, Zusammenhang mit einigen Stilben. 247

- Ramularia acris* Lindb. s. *Didymaria didyma* (Ung.) Schröt. 746
 Rebenschädlinge, Bekämpfung. 595
Reblaus s. *Phylloxera vastatrix*.
 Reduktasen der Kuhmilch. 741
 Reifung des Käses, Vorkommen von säurelabbildenden Bakterien. 236
Rhizoglyphus echinopus, Zerstörung von Kartoffeln. 253
Rhizophyidium Dicksonii Wright, Gattungszugehörigkeit. 247
Rhopalosiphum berberidis auf *Berberis vulgaris*, Gallenbildung. 255
 — *calthae* auf *Caltha palustris*, Gallenbildung. 255
 — *dianthi* auf *Amygdalus amygdalus*, Gallenbildung. 255
 — *lactucae* auf *Sonchus oleraceus*, Gallenbildung. 255
Robinia, *Phleospora Robiniae* (Desm.) v. Höhn. als Ursache der Blattfleckenkrankheit. 745
 Rostpilze s. auch Pilze.
 — Australiens. 733
 —, neue, heterözische. 385
 —, Weiden-, experimentelle Untersuchungen. 74 159
Saccharomyces, Spaltung des Butterfettes. 733. 776
 — *anomalus*, Kern. 636
 — *apiculatus*, Kern. 636
 — *cerevisiae*, Kern. 636
 — — Hansen, Schwefelwasserstoffbildung. 305
 — *ellipsoideus*, Kern. 635
 — —, Schwefelwasserstoffbildung. 307
 — *intermedius* Hansen, Schwefelwasserstoffbildung. 306
 — *Ludwigii*, Kern. 637
 — *Marxianus*, Schwefelwasserstoffbildung. 308
 — *minor*, Ursache der Teiggärung. 514
 — *Pastorianus*, Kern. 635
 — *roseus*, Vorkommen in der Butter. 778
 — *turbidans*, Schwefelwasserstoffbildung. 307
 — *validus* Hansen, Schwefelwasserstoffbildung. 306
Saccharomyceten, Alkoholgärung der Milch. 547
Saccharomycetenzelle s. a. Hefenzelle.
 —, feinerer Bau. 629. 697. 736
 —, Kern. 635
 —, Kern, Verhalten bei der Sporenbildung. 639. 697
 —, Kernteilung bei der Sprossung. 637
 —, Protoplasmakörper, Bau. 632
 —, Sporen. 698
 —, Zellhaut, Bau. 630
Saccharomycodes Ludwigii, Schwefelwasserstoffbildung. 307
Sachsia suaveolens, Gärversuche. 740
 Säure, fuchsinschweifige, zum Nachweise von Formalin in der Milch. 763
Salix caprea, Gallenbildung. 578
 Salpeter, Chili-, Wirkung auf die Stickstoffmenge im Boden. 739
 Salpetersäure, Bestimmung im Boden. 272
Sarcina, Spaltung des Butterfettes. 733
 — *flava*, Vorkommen in der Butter. 778
 Sauerstoffmaxima der Bakterien. 386
 Sauerwerden der Milch, Ursache. 543
 Sauerwurm s. *Cochylis ambiguella*. 529
 Schädlinge der Pflanzen. 529
 —, Reben-, Bekämpfung. 595
 —, tierische, der Baumwollkulturen. 756. 757
 —, tierische, des Weinstockes. 751
 —, tierische, der Zuckerrübe. 748
 Scharlach, Verbreitung durch Milch. 543
 Schildlaus s. *Diaspis pentagona*.
 Schimmel, Weinbukett- s. *Sachsia suaveolens*. 770
 Schimmelpilze s. a. Pilze.
 Schimmelpilz, Zersetzung von Paraffin. 382
 Schizomyceten s. a. Bakterien.
 —, chemische Bestandteile. 219
 —, Morphologie, Entwicklung, Systematik. 218
 —, Physiologie. 222
Schizophyllum lobatum, Bildung von Schwefelkohlenstoff. 331
Schizosaccharomyces octosporus, Kern. 637
 — Pombe, Schwefelwasserstoffbildung. 305
 Schnellessigbakterien s. Bakterien, Schnell-
 essig-.
 Schwefelkohlenstoff, Bedeutung für die Fruchtbarkeit des Bodens. 329. 344
 —, Bildung durch *Schizophyllum lobatum*. 331
 —, Wirkung auf Algen. 338
 —, Wirkung auf *Azotobacter*. 339
 —, Wirkung auf Bakterien. 332
 —, Wirkung auf Clostridien- u. Plectridien-
 formen und Granuloseorganismen. 338
 —, Wirkung auf die Fäulnis. 337
 —, Wirkung auf niedere pflanzliche Or-
 ganismen. 329
 —, Wirkung auf die Nitrifikation. 334
 —, Wirkung auf Streptothrixpilze. 338
 Schwefelwasserstoffbildung durch Hefe. 303
Sclerotinia Crataegi, Beschreibung. 577
 — *heteroica*, Wirtswechsel. 568
 — *Libertiana* Fuckel, Schädling des Blumen-
 und Kopfkohles. 747
 Seide s. a. *Cuscuta europaea* L. 252
 Selbsterhitzung der Gerste, Ursache. 242
 — des Heues, Ursache. 241
 Selbstreinigung von Flüssen, bakteriolo-
 gische und chemische Untersuchungen. 229
 — des Wassers. 271
Semiclostridium citreum, Vorkommen in
 Zuckerfabriken. 237
 — *commune* n. sp.. Bildung von Gallerte
 in den Säften von Zuckerfabriken. 236
 — — —, Morphologie und Biologie. 236
 — *flavum*, Vorkommen in Zuckerfabriken. 237

- Semiclostridium rubrum*, Vorkommen in Zuckerfabriken. 237
- Septoria glumarum* Pass., Entwicklung und Parasitismus. 248
- — —, Identität mit *Macrophoma* (*Cylindrophoma*) Hennebergii. 248
- *graminum* Desm., Entwicklung und Parasitismus. 248
- — —, Verbindung mit *Leptosphaeria tritici* (Gib.) Pass. 248
- *helleborina* auf *Helleborus*. 745
- *Mori* Pass., Schädling des Maulbeerbaumes. 529
- *Robiniae* Desmaz. = *Phleospora Robiniae* (Desm.) v. Höhn. 745
- Serum, Milch-, Vorkommen von mit β -Naphthalinsulfochlorid reagierenden Körpern. 235
- Sesamum orientale*, Bakterienkrankheit. 664
- Silber, Verhalten gegen Zellen niederer Pflanzen. 267
- Sorghum* s. a. Hirse. 743
- , Giftigkeit. 743
- Sphaceloma ampelinum*, Bekämpfung. 595
- Sphaeroderma microsporium* n. sp. auf *Fagus silvatica*. 744
- Sphaerotheca Castagnei* Lév., Vorkommen auf Erbsenblättern. 67
- *Humuli*, Befruchtung. 746
- — (DC.) Burr. var. *fuliginea* (Schlechth.) Salm, Identität mit *Sphaerotheca Phtheirospermi*. 247
- *Kusanoi* P. Henn. et Shirai, Identität mit *Sphaerotheca lanestris* Harkn. 247
- *lanestris* Harkn., Identität mit *Sphaerotheca Kusanoi* P. Henn. et Shirai. 247
- — —, Vorkommen in Japan. 246
- *Phtheirospermi* P. Henn. et Shirai, Identität mit *Sphaerotheca Humuli* var. *fuliginea*. 247
- Sphaerotilus natans*, Rolle bei der Selbstreinigung des Wassers. 271
- Spirillum undula*, Standort in der Natur. 431
- Sporen, Bildung bei obergärigen Bierhefen. 298
- konservender Bakterien, Resistenz. 506
- , Uredo-, Keimung. 565
- Staphylococcus pyogenes albus*, Vorkommen in der Butter. 778
- — *aureus*, Vorkommen in Butter. 207. 778
- Sterilisierung s. a. Konservierung, Desinfektion.
- des Wassers durch Tachiol. 269
- des Wassers durch Wasserstoffsuperoxyd. 269
- Stichococcus*, Assimilation von elementarem Stickstoff. 649
- Stictis Panizzei* de Not., kulturelle Eigenschaften. 251
- Stickstoff, Assimilation durch Algen. 646. 703
- , Assimilation durch *Clostridium americanum* n. sp. 795
- Stickstoff, Assimilation durch Rhizobien vermittelt. 576
- , atmosphärischer, Verarbeitung durch Mikroorganismen. 557
- der Luft, Verarbeitung durch niedere pflanzliche Organismen. 642
- , Schwankungen im freien Lande und deren Bestimmung. 559
- , Verlust im Boden bei Düngung mit Chilisalpeter. 739
- Stickstoffgehalt des unbebauten Ackerbodens. 560
- Stilbeen, Zusammenhang mit *Ovularia*. 247
- , Zusammenhang mit *Ramularia*. 247
- Stoffwechselprodukte, Einfluß auf das Wachstum von *Bacillus fluorescens liquefaciens*. 421. 609
- , Einfluß auf das Wachstum von *Bact. coli*. 613
- , Einfluß auf das Wachstum der Bakterien. 417. 609
- Streptococcus*, Spaltung des Butterfettes. 733
- *acidi lactici* s. *Bacterium lactis acidi*. 536
- *lacticus*, Ursache des Sauerwerdens der Milch. 538. 544
- *mesenterioides*, Bildung von Gallerte in den Säften von Zuckerfabriken. 236
- *pyogenes*, Vorkommen in der Butter. 778
- Streptothrix*, Rolle bei der Selbsterhitzung des Heues. 245
- , Wirkung von Schwefelkohlenstoff. 338
- Stypinella hypochnoides* n. sp., Vorkommen. 744
- Stysanus pallescens* Fckl., Aenderung in *Harpographium pallescens* (Fckl.) P. Magn. 247
- Superoxydase (Katalase) in der Milch, Unterscheidung von Reduktase. 741
- Sycochymase, Labferment aus *Ficus Carica*. 1
- Synchytrium alpinum* Thomas, Keimungsverhältnisse. 511
- *cupulatum* Thomas, Keimungsverhältnisse. 511
- *Saxifragae* n. sp. ad int., Keimungsverhältnisse. 512
- Tabakspflanze, Mosaikkrankheit, Ursache. 568
- Tachiol zur Sterilisation von Wasser. 269
- Talsperrenwasser s. Wasser, Talsperren-. Tanne s. a. *Abies*.
- Tapesia atrosanguinea* Fuckel = *Patellea pseudosanguinea* Rehm. 745
- — Fuckel = *Phialea atrosanguinea* (Fuckel) v. Höhn. 745
- Taphrina japonica* n. sp. auf *Alnus japonica* S. et Z. 248
- *piri* n. sp. auf *Pirus Miyabei* Sarg. 248
- *truncicola* n. sp. auf *Prunus incisa* Thbg. 248
- Teig, Mehl-, Gärung. 513
- Tellur zum Nachweis von Bakterien. 258
- Temperatur, Einfluß auf das Wachstum von *Pseudomonas cerevisiae*. 316

- Temperatur, zur Pasteurisierung des Essigs erforderlich. 592
- , Tötungs-, der auf dem Malze lebenden Mikroorganismen. 761
- , Wirkung auf Myxobakterien. 23. 30
- Termiten, Schädlinge der Baumwollkulturen. 758
- Thyosidina carneo-miniata* auf *Acer Pseudoplatanus*. 745
- Tötung lebender Substanz, notwendige Giftmenge. 583
- Tötungszeiten der Bakterien bei höheren Sauerstoffkonzentrationen. 386
- Tomicus typographus*, Biologie, Vorkommen. 581
- Tortrix ambiguella*, Bekämpfung. 595
- Torula*, Alkoholgärung der Milch. 547
- Traubenmotte s. *Cochylis ambiguella* Hüb. 579
- Trichoseptoria fructigena* n. sp. Maublanc, Vorkommen auf *Pirus Malus* und *Cydonia vulgaris*. 570
- Tuberkelkrankheit des *Nerium Oleander*, Ursache. 250
- Tuberkulose, Verbreitung durch Milch. 543
- Tylenchus devastatrix* Kühn, Schädling des Kohls. 529
- Typhus, Verbreitung durch Milch. 543
- Tyrothrix tenuis*, Spaltung des Butterfettes. 733. 776
- Ueberwinterung des *Oidium* des Weinstockes. 751
- Ultramikroorganismen, Untersuchungen. 667
- Uncinula Clintonii* Peck, Vorkommen in Japan. 246
- *Delavayi*, Vorkommen in Japan. 247
- *geniculata* Ger., Vorkommen in Japan. 246
- *polychaeta* (Berk. et Curt.), Vorkommen in Japan. 246
- Unguicularia unguiculata* n. sp., Beschreibung. 746
- Uredineen Australiens. 733
- , Infektionsversuche. 150
- , Wirtswechsel. 568
- Uredosporen, Keimung. 565
- Uromyces Alchemillae* (Pers.) Lév., Infektionsversuche. 158
- *Festucæ* Sydow, Morphologie. 157
- *graminis* Niessl, Beziehung zu *Aecidium Seseli* Niessl. 152
- *Ranunculi distichophylli* Sem. n. sp., Infektionsversuche. 385
- Ustilago destruens* s. *Ustilago Panicimiliacei*. 575
- *grandis*, Infektion von *Phragmites communis*. 575
- *hordei*, Blüteninfektion der Gerste. 249
- —, Infektion von Gerste. 574
- *longissima*, Infektion von *Poa aquatica*. 575
- *Maydis*, Infektion von Mais. 575
- *Panicimiliacei* (*destruens*), Infektion von Rispenhirse. 575
- *Setariae*, Infektion von Kolbenhirse. 575
- Ustilago sorghi*, Infektion von Mohrenhirse. 575
- *tritici*, Infektion von Weizen. 573
- Variation bei Bakterien. 535
- Vergärbarkeit des Xylans. 556
- Versuchsstation, k. k. landwirtsch.-chem. in Görz, Tätigkeit im Jahre 1905. 529
- Verzuckerungsflüssigkeit, Einfluß der Reaktion auf die Wirkung der Diastase. 740
- Vibrio cholerae* in der Milch, Wirkung des Buddeprozesses. 591
- Viskosität der Milch, Ursache. 551
- Wachholder s. *Juniperus*.
- Wachstum der Bakterien, Einfluß der Stoffwechselprodukte. 417. 609
- der Hefe in mineralischer Nährlösung. 239
- Wasser s. a. Abwasser.
- , bakteriologische Untersuchung. 582
- , fließendes, Verhalten einer Bacillennwolke. 119
- , Fluß-, Selbstreinigung, bakteriologische Untersuchung. 229
- , Selbstreinigung. 271
- Sterilisation durch Wasserstoffsperoxyd. 269
- , Talsperren-, biologische Wirksamkeit. 230
- , —, Vorkommen von Mikroorganismen. 230
- , Trink-, chemische und bakteriologische Untersuchung. 227
- , Trink-, Sterilisation durch Tachiol. 269
- , Vernichtung der Bakterien durch Protozoen. 589
- , Vorkommen von *Pseudomonas portetana*. 228
- Wasserpflanzen, Infektion mit Brandpilzen. 577
- Wasserstoff, Oxydation durch anaerobe Prozesse. 771
- , Oxydation durch Mikroorganismen. 681. 679
- , Verhalten des *Bacillus oligocarbophilus*. 695
- Wasserstoffsperoxyd, Konservierung der Milch. 271. 591
- , Wirkung auf Bakterien im Wasser. 269
- Weidenrostpilze s. Rostpilze, Weiden-
- Weinbukettschimmel s. *Sachsia suaveolens*. 740
- Weinstock, parasitäre Krankheiten. 751
- , *Phytoplus Vitis* L. als Ursache der Filzkrankheit. 750
- Weizen, Infektion mit *Ustilago tritici*. 573
- Willia anomala*, Schwefelwasserstoffbildung. 305. 307
- *Wichmanni* n. sp. Zikes, kulturelles Verhalten. 105
- — —, Morphologie. 104
- Wirtswechsel bei parasitischen Pilzen. 567
- Wurst, Vorkommen von Bakterien. 226
- Wurzelknöllchen der Leguminosen, Bakterien. 540
- Xanthoria parietina*, Intumescenzbildung. 753

| | | | |
|--|------|---|-----|
| Xerocarpus polygonoides = Corticium roseum. | 744 | Zoogloea ramigera, Standort in der Natur. | 431 |
| Xylan, Vergärbarkeit. | 556 | Zoologie, Rolle in der Phytopathologie. | 753 |
| Xylotrechus des Bambus, Schädling des Kaffeebaumes. | 253 | Zuckerfabriken, Gallertbildungen in den Säften der — | 236 |
| Zellen, lebende, Wirkung von stark verdünnten Lösungen. | 259 | Zuckerrübe, von Cuscuta europaea L. (Seide) befallen. | 252 |
| — niederer Pflanzen, Verhalten gegen Metalle der Kupfergruppe. | 267 | —, durch Nematoden geschädigt. | 594 |
| Zelle, Saccharomyceten-, feinerer Bau. | 629. | —, Schädlinge und Krankheiten. | 748 |
| | 697. | Zymase, Wirkung von aufgekochtem Preßsaft. | 232 |
| Zersetzung der Fette. | 488 | | |

III. Verzeichnis der Abbildungen.

| | | | |
|---|------------------------------|---|----------|
| Actinomyces, Vorkommen in der Butter (Taf.). | 778 | Chondromyces serpens Thaxter, Habitus (Taf., Fig. 7). | 34 |
| Anthyllis vulneraria, Knöllchen (Taf. I, Fig. 11). | 149 | Coniophora cerebella (Corticium putaneum), Kultur. | 408 |
| Apparat zur Kultur von Bakterien bei hohen Sauerstoffkonzentrationen. | 387. 388. 390. 391. 393. 397 | Erbsenfrucht, von Bacillus leguminiperdus befallen (Taf., Fig. 2 u. 3). | 74 |
| — — — von Gas veratmenden Bakterien. | 685. 686 | —, normal gereift (Taf., Fig. 1). | 74 |
| — — Messung der Trübung in gärenden Flüssigkeiten. | 483 | Hefe, Bier-, obergärige, Riesenkolonien (Taf. I—III). | 481 |
| Bacillus anaërobicus der Capronsäuregruppe, Agarkultur (Taf. II, Fig. 6). | 66 | —, —, —, Zellformen. | 448. 449 |
| — — —, Gelatinekultur (Taf. I, Fig. 5, Taf. II, Fig. 7 u. 9). | 66 | Hefen, Obstwein-, Riesenkolonien (Taf.). | 52 |
| —, Buttersäure, Gelatinekultur (Taf. III, Fig. 8). | 66 | Kartoffelkultur, Bakteroiden (Taf. II, Fig. 7). | 149 |
| — des Gasabscesses, Agarkulturen (Taf. I, Fig. 1. u. 2). | 66 | Kleeknöllchen, Längsschnitt. | 135 |
| — — —, Bildung von Leucin- und Tyrosinkristallen (Taf. I, Fig. 4). | 66 | Leguminosenknöllchen (Taf. I). | 149 |
| — — —, Gelatinekultur (Taf. I, Fig. 3). | 66 | —, Längsschnitt. | 133 |
| — leguminiperdus, Impfungen (Taf.). | 74 | Lupinenhülse, Impfung mit Bacillus leguminiperdus (Taf., Fig. 4). | 74 |
| — maximus buccalis (Miller), Spiralkern, Ruhestadium (Taf., Fig. 1—20). | 681 | Lupinus perennis, Bakteroiden (Taf. II, Fig. 4). | 149 |
| — — —, Spiralkern, Teilungsstadien (Taf., Fig. 21—33). | 681 | Melilotus officinalis, Bakteroiden (Taf. II, Fig. 5). | 149 |
| — Sesami, Kultur (Taf. IV, Fig. 1). | 666 | Microspira Comma bei gewöhnlicher Beleuchtung. | 671 |
| — —, vergrößert (Taf. IV, Fig. 3). | 666 | — —, ultramikroskopische Untersuchung. | 671 |
| — typhi, ultramikroskopische Untersuchung. | 671 | — Metschnikoffi, ultramikroskopische Untersuchung. | 671 |
| Bakteroiden (Taf. I, II). | 149 | Myxobakterien, Entwicklung des Cystophors. | 32 |
| Bohnenhülse, von Bacillus leguminiperdus befallen (Taf., Fig. 5 u. 6). | 74 | —, Wachstum. | 24. 25 |
| Chondromyces apiculatus Thaxter, abnormer Fruchtkörper (Taf., Fig. 15). | 34 | Myxococcus clavatus Quehl, Habitus (Taf., Fig. 9). | 34 |
| — — —, Cyste (Taf., Fig. 14). | 34 | — digitatus Quehl, Habitus (Taf., Fig. 1). | 34 |
| — — —, Habitus (Taf., Fig. 13). | 34 | Objektträgerkorb. | 191 |
| — crocatus Berkeley u. Curtis, Cysten. | 34 | Onobrychis viciaefolia, Knöllchen (Taf. I, Fig. 2). | 149 |
| — erectus (Schröter) Zukal, Habitus (Taf., Fig. 4). | 34 | Phascolus vulgaris, Knöllchen (Taf. I, Fig. 6). | 149 |
| — gracilipes Thaxter, Habitus (Taf., Fig. 12). | 34 | Pisum sativum, Bakteroiden (Taf. II, Fig. 3). | 149 |
| — lichenicolus Thaxter, Habitus (Taf., Fig. 6). | 34 | Polyangium fuscum (Schröter) Zukal, Habitus (Taf., Fig. 8 u. 16). | 31 |

| | | | |
|--|-----|--|-----|
| Polyangium primigenium Quehl, Habitus (Taf., Fig. 5). | 34 | Sesamum orientale , normal (Taf. I). | 666 |
| — sorediatum , Cysten (Taf., Fig. 3). | 34 | — —, Zellen und Gefäße von Blattstielen, mit Bakterien gefüllt (Taf. II u. III). | 666 |
| — — Thaxter , Habitus (Taf., Fig. 2). | 34 | Trifolium pannonicum , Knöllchen (Taf. I, Fig. 5; Taf. II, Fig. 6). | 149 |
| Pseudomonas cerevisiae (Taf.) | 325 | — pratense , Bakteroiden (Taf. II, Fig. 1 u. 2). | 149 |
| — Sesami , Kultur (Taf. IV, Fig. 1). | 666 | — —, Knöllchen (Taf., Fig. 3 u. 7). | 149 |
| — —, vergrößert (Taf. IV, Fig. 2). | 666 | Ultramikroorganismen . | 671 |
| Schimmelpilze , Vorkommen in der Butter (Taf.). | 778 | | |
| Sesamum orientale , Bakterienkrankheit. (Taf. I). | 666 | | |

IV. Neue Literatur.

93. 273. 595. 765.

5912-13
M

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Digitized by

Go gle

Original from
HARVARD UNIVERSITY





3 2044 102 988 326