

Untersuchungen

über den

Bau von *Beggiatoa mirabilis* Cohn.

Von

Dr. **G. Hinze.**

Hierzu Tafel IV und V.

Ueberblickt man die reichhaltige Litteratur über den Bau der Bakterien, so fällt dabei auf, dass fast alle Autoren, viele unter unzulässiger Verallgemeinerung einer oder mehrerer Einzelbeobachtungen, die Bakterienzelle für kernhaltig ansehen. Nur ein Forscher, A. Fischer¹⁾, kam zu negativem Resultat. Da scheint es fast, als ob dieser Botaniker falsche Bahnen gewandelt sei. Indess geben gerade seine Arbeiten einen wichtigen Anhalt zur Beurtheilung der ihm entgegenstehenden Ansichten. Besonders die Untersuchungen, die von medizinischer Seite stammen, lassen häufig die Kritik ihrer Methode vollständig ausser Acht. Und doch ist das der allein richtige Weg, um einwandfreie Ergebnisse zu erhalten. Es muss immer betont werden, dass Fixirung und Färbung nur ein Nothbehelf sind, um Einzelheiten genauer zu studiren oder, auf dem umgekehrten Wege, durch sie gewonnene Resultate als Fingerzeige zu benutzen, den gleichen Verhältnissen im lebenden Organismus nachzuspüren. Schon durch die Fixirung können Veränderungen im Bau der Zellen stattfinden, indem gewisse Bestandtheile, etwa durch den Einfluss von Säuren, ausgefällt werden. Deshalb ist zunächst darauf zu achten, dass die „Kerne“ kein Kunstprodukt darstellen. Eine Reihe von Arbeiten lässt schon diese erste Vorsichtsmassregel vermissen. Ferner können die komplizirten, zum Theil sehr eingreifenden Färbeverfahren, wie sie namentlich die medizinischen Bakteriologen häufig anwenden, ebenfalls Deformationen der Zelle hervorrufen. Und endlich gewährt ja, das haben die Fischer'schen Arbeiten dargelegt, die starke Färbbarkeit keinen Aufschluss über den morphologischen Werth eines Zellbestandtheiles. „Kernfarbstoffe“ existiren nicht, da intensive Färbung wohl über den physikalischen, nicht aber über den chemischen Charakter einen Anhalt giebt. Nur Lebendbeobachtung und Benutzung chemischer Reaktionen sind geeignet, die Kernfrage einwandfrei zu lösen. Da aber die Chemie selbst des typischen Zellkernes und seiner Bestandtheile bisher nur wenig bekannt ist, so dürften die in dieser Richtung angestellten Untersuchungen noch keinem Abschluss entgegensehen können. Mithin ist die Beobachtung des lebenden Zustandes und ein besonnenes Vergleichen desselben mit den an fixirtem und gefärbten Material gewonnenen Befunden bislang die einzige einer Kritik standhaltende Methode, die zum Ziele führen kann. Unter diesen Gesichtspunkten habe ich meine Untersuchungen an *Beggiatoa mirabilis* ausgeführt, die ich nunmehr eingehend darstellen werde, nachdem ich bereits in einer vorläufigen Mittheilung²⁾ die Hauptergebnisse derselben veröffentlicht habe. Wie es bei derartigen

1) A. Fischer, Untersuchungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Jena 1897.

2) Hinze, Ueber den Bau der Zellen von *Beggiatoa mirabilis* Cohn. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft. 1901. Bd. 19, Heft 6.

Studien zu gehen pflegt, erweitert sich das zunächst eng umgrenzte Thema mehr und mehr, und so habe ich bald nicht nur einem Kern in den Zellen der *B. mirabilis* nachgeforscht, sondern auch den Bau derselben eingehend zu analysiren mich bestrebt.

Beggiatoa mirabilis ist zuerst von Cohn¹⁾ beschrieben worden. Er fand sie in seinem Seewasseraquarium, wo sie in reichlicher Menge, mit anderen *Beggiatoen* vermischt, einen weissen Ueberzug auf Steinen und Algen bildete. Ausführlicher als in dieser kurzen Mittheilung hat Cohn²⁾ im Jahre 1867 die Morphologie der *B. mirabilis*, die er für eine farblose Oscillarie hält, behandelt. Er sagt dort: „Die Fäden sind steif, aber auf das Wunderlichste gekrümmt, gelockt, in Schlingen und Zöpfe zusammengewirrt; die Membran ihrer fast quadratisch erscheinenden Zellen ist zart, der Inhalt ein farbloses, wasserhelles, von Vakuolen durchzogenes Plasma, in welchem kuglige, das Licht stark brechende Körnchen (vielleicht Paramylon) in sehr grosser Zahl eingebettet, insbesondere den Wänden angelagert liegen (Taf. I, 5).“ Für die Bewegung der Fäden von *B. mirabilis* stellt Cohn wie für die der Oscillarien drei Gesetze fest: eine stetige Drehung des Fadens um die Längsachse (Rotation), ein langsames Fortschieben in häufig wechselnder Richtung und eine Flexilität, d. h. die Fähigkeit des Fadens, sich selbstthätig beugen und strecken zu können. Dazu kommen noch bei *B. mirabilis* eigenthümliche ganz kurze Kontraktionswellen hinzu, indem die Zellen, namentlich die Endzelle, ruckweise sich zusammenzuziehen und auszudehnen vermögen, was durch die Dehnbarkeit und Elastizität der Membranen bedingt wird.

An der dänischen Küste hat Warming³⁾ das Vorkommen von *B. mirabilis* festgestellt; aus seiner anscheinend wenig bekannten Arbeit hebe ich nach dem französischen Résumé die Hauptsachen hervor. „Die Gliederung der Fäden, die 20—40 μ dick sind, ist gut zu erkennen, sowohl an der Anordnung der in Querreihen liegenden Körnchen wie auch durch die auf dem optischen Schnitt sichtbaren Querwände.“ Die Höhe der Gliederzellen beträgt $\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{3}$ der Dicke des Fadens. Das Innere der Zelle nimmt eine, häufig von Protoplasmasträngen durchzogene Vakuole ein. Im wandständigen Protoplasma befinden sich lebhaft glänzende, deutlich eckige, krystallinische Protoplasmaugeln in Molekularbewegung⁴⁾. Gemeinsam mit den Fäden treten runde oder ovale Organismen auf, die *B. mirabilis* vollkommen gleichen, sowohl in der Grösse, im Aussehen und in der Form der Körnchen wie in der Bewegung. Doch sind an ihnen keine Querwände zu erkennen, und die Körnchen liegen auch theilweis im Innern der Zelle, wie man an plasmolysirten Zellen sieht; sie theilen sich durch Einschnürung. Zweifellos können diese Organismen, die eine Länge von 85 μ erreichen, nach Warming zu Fäden von *B. mirabilis* auswachsen; er nennt sie deshalb *Beggiatoenkeime*.

¹⁾ Cohn, Zwei neue *Beggiatoen*. Hedwigia 1865.

²⁾ Cohn, Beiträge zur Physiologie der *Phycodromaceen* und *Florideen*. M. Schultze's Archiv für mikroskopische Anatomie. 3. Bd. 1867.

³⁾ Warming, Observations sur quelques Bactéries, qui se rencontrent sur les côtes du Danemark. Résumé d'un mémoire publié dans les „Videnskabelige Meddelelser“ de la Société d'histoire naturelle de Copenhague. 1875.

⁴⁾ Warming glaubt, dass diese Körner sich von den Schwefelkörnern in den übrigen *Beggiatoen* unterscheiden; aus seiner Zeichnung geht aber klar hervor, dass er nur die Schwefeltropfen mit ihnen gemeint haben kann.

Engler¹⁾ konnte *B. mirabilis* an verschiedenen tieferen (5—10 m) Stellen des Kieler Hafens entdecken, dagegen misslang ihm ihre Isolirung aus den von *B. alba* gebildeten Rasen des flachen (1—2 m) Bootshafens und seines Verbindungskanals nach dem „kleinen Kiel“. Die Arbeit Engler's steht unter dem Eindruck der damals weit verbreiteten Anschauung des Pleomorphismus der Bakterien. In einzelnen Zellen der 20—30 μ dicken Fäden findet Engler häufig kleine Bakterien; bei solchen Zellen ergiesst sich ihr Inhalt unter Zerreiſung der Querwände in die Nachbarzelle. Ferner formt sich der Inhalt mancher Zellen zu Protoplasmakugeln um, die wie Vakuolen erscheinen. Diese Körper haben entweder ein homogenes Aussehen, oder sie sind mit zahlreichen kleinen wirbelnden Körnchen erfüllt; zuweilen werden sie nach aussen entleert, wobei auch einige zusammenfliessen können. Vermuthlich liege hier keine Sporen- oder Mikrokokkenbildung, sondern eine krankhafte Erscheinung vor. Die *Beggiatoenkeime* Warming's, die auch Cohn zur Entwicklungsgeschichte von *B. mirabilis* stellt, fand Engler ebenfalls, aber immer in Gesellschaft von *B. alba* und *B. arachnoidea*; er trennt sie von *B. mirabilis*, da sie nie zu Fäden auswachsen.

Die Krümmungen der Fäden von *B. mirabilis* sind von Kolkwitz²⁾ eingehender studirt worden. Sie erfolgen nach diesem Autor nicht spontan, sondern werden durch kleine Hindernisse (z. B. Schmutzpartikelchen) veranlasst; sind keine Hemmungen vorhanden, so bewegen sich die Fäden geradlinig fort.

Seine Anschauung, dass die Bakterien einen dem Zellkern entsprechenden Centralkörper besitzen, konnte Bütschli³⁾ auch bei *B. mirabilis* bestätigt finden. Einen grossen, von einer Vakuole erfüllten Centralkörper, in dessen Wandung die Schwefelkörner lagern, und in dem sich mit Hämatoxylin „rothe Körnchen“ färben lassen, umschliesst eine dünne, einwabige Rindenschicht. In der späteren, ausführlicheren Arbeit Bütschli's⁴⁾ aus dem Jahre 1896 findet sich *B. mirabilis* nur einmal dort erwähnt (p. 38), wo es sich um den Nachweis der Natur der Schwefeltropfen handelt.

Der Bütschli'schen Auffassung der Zelle von *B. mirabilis*, wie der der Bakterienzelle überhaupt, widerspricht Massart⁵⁾ in einer jüngst erschienenen Arbeit. Massart hat Fäden bis zu 16 μ Dicke untersucht; er fand in den Zellen, an denen er keine Querwände erkennen konnte, nie einen Centralkörper.

Damit sind die Litteraturangaben über *B. mirabilis* erschöpft; bei der Darstellung meiner eigenen Beobachtungen werden sie eingehend zu berücksichtigen sein.

Das Material, das ich zu meinen Untersuchungen benutzte, entnahm ich dem inneren Kieler Hafen. Hier ist eine sehr üppige *Beggiatoenflora*, besonders im sogenannten Boots-

1) Engler, Ueber die Pilzvegetation des weissen oder todtten Grundes in der Kieler Bucht. IV. Bericht der Kommission zur wissenschaftlichen Untersuchung der Deutschen Meere in Kiel. VII. bis IX. Jahrg. Berlin 1884.

2) Kolkwitz, Ueber die Krümmungen und den Membranbau bei einigen Spaltalgen. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft Bd. 15. 1897.

3) Bütschli, Ueber den Bau der Bakterien und verwandter Organismen. Leipzig 1890.

4) Bütschli, Weitere Ausführungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Leipzig 1896.

5) Massart, Sur le protoplasme des Schizophytes. Recueil de l'Institut Botanique. Université de Bruxelles. Tome V. 1902.

hafen, entwickelt. Von den dort verankert liegenden Obstkähnen sowie den angrenzenden Gehöften gelangt eine grosse Zahl von Abfällen in das Wasser; der bei ihrer Zersetzung fort und fort sich bildende Schwefelwasserstoff bedingt die *Beggiatoenrasen*. Zuweilen sind grosse Strecken mit einem gelblichweissen Filz bedeckt; die Untersuchung lehrt dann, dass dieser neben Schwefel, der durch Oxydation des H_2S durch den Luftsauerstoff entstanden ist, grösstentheils aus *Beggiatoen* besteht. Daneben finden sich zahlreiche *Anguilluliden* und *Protozoen*, namentlich *Infusorien*, sowie oft reichliche Mengen von *Diatomeen*, deren Gedeihen die Schwefelwasserstoffatmosphäre offenbar nicht beeinträchtigt. Das Wasser steht an den von den *Beggiatoen* bevorzugten Stellen normaler Weise $\frac{1}{2}$ —1 m hoch; nur selten wird es durch hereinfluthende Wassermassen in lebhaftere Bewegung versetzt; dann kann man die Beobachtung machen, dass die Mengen der *Beggiatoen* wesentlich geringer geworden sind. Auch wenn, wie es zuweilen vorkommt, der Wasserstand so niedrig ist, dass ein Theil des Schlickes frei liegt, verschwinden darauf die *Beggiatoen*; nach Eintritt günstigerer Verhältnisse sind sie aber bald wieder in grosser Menge vorhanden ¹⁾. — Ebenso reichlich wie im Bootshafen fand ich die *Beggiatoen* in der Nähe der „Seeburgbrücke“. Auch an anderen Punkten des Hafens kann man, wie schon Engler ²⁾ angiebt, besonders am Ufer und an den Brücken, die weissen Rasen durch das Wasser heraufschimmern sehen.

Mit einem geeigneten Instrument wurde nun von diesem Filz ein Theil vorsichtig aus dem Wasser herausgehoben, mit dem mitgerissenen Schlick auf Tellern ausgebreitet und mit einer Glasscheibe zugedeckt. Schon nach einigen Stunden waren dann die beim Einholen und Transport mit dem Schlick vermengten *Beggiatoen* an die Oberfläche gekommen. Die Rasen zeigten allermeist zunächst nur kleine Formen. *B. mirabilis* war anfangs nur selten zu finden, nach einiger Zeit trat sie jedoch in grösserer Zahl hervor. Es wurde aber immer mit Freuden begrüsst, wenn sie in solcher Menge vorhanden war, dass nicht jeder einzelne Faden als werthvolles Objekt betrachtet werden musste. Vielleicht ist die geringe Wassermenge, die über einer solchen Tellerkultur steht, die Ursache für die spärliche Entwicklung von *B. mirabilis*. Entgegen der Engler'schen Angabe ³⁾ fand ich also auch im flachen Wasser des Bootshafens *B. mirabilis* auf, und zwar untermischt mit *B. alba*. — Einen anderen Theil des eingeholten Untersuchungsmateriales füllte ich in kleine Glashäfen. Diese waren bei einem Durchmesser von 10 cm ca. 15 cm hoch; bis zur Hälfte wurden sie mit *Beggiatoen* führendem Schlick beschickt, und darüber Seewasser bis zum Rande gegossen.

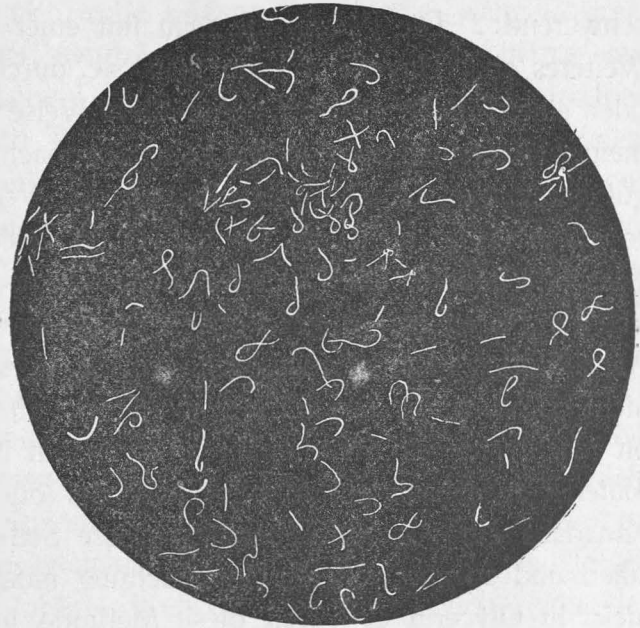
Da alle diese Kulturen dazu dienten, das Material lediglich in erforderlicher Menge zu züchten, so habe ich die Bedingungen, von denen das Gedeihen von *B. mirabilis* abhängt, nicht systematisch zu erforschen gesucht. Im Allgemeinen haben die in Glashäfen angesetzten Kulturen nicht sehr glänzende Resultate ergeben. Immerhin bietet doch das Aussehen einer solchen manches Interessante; es sei deswegen ein kurzer Auszug aus meinem Protokoll mitgetheilt:

¹⁾ Diese Standorte sind seitdem weit weniger ergiebig geworden, da der Bootshafen inzwischen ausgebaggert und die Obstkähne entfernt sind, also die Existenzbedingungen der *Beggiatoen* sich viel ungünstiger gestaltet haben.

²⁾ l. c.

³⁾ l. c.

Kultur V. Angesetzt Mitte Dezember 1900. Material aus der Nähe der Seeburgbrücke. Das anfangs klare Wasser über der Schlickschicht trübt sich durch ausgeschiedenen Schwefel milchig. 10. Januar 1901: das Gefäss wird aus dem kalten Raum in ein geheiztes Zimmer an das Fenster gestellt; das Wasser klärt sich bald. Ende Januar erscheint *B. mirabilis* in geringer Menge. 29. I. Von der Kultur wurde eine genaue Zeichnung angefertigt. Dieses Uebersichtsbild (siehe die nebenstehende Abbildung) zeigt die auf dem schwarzen Schlick weiss erscheinenden *Beggiatoen* etwas vergrössert. 5. II. Am Rande des Glashafens befinden sich nur noch wenige Exemplare, auf der Schlickschicht ist eine reichliche Zunahme zu konstatiren. 20. II. Am Glashafenrande sind lediglich auf der stärker belichteten Seite mehrere Fäden zu entdecken. 16. III. Keine Zunahme. Im Wasser über der Schlickschicht treten zahlreiche Häute von *Thiothrix* auf.



Das beste Material erhielt ich aus einer Kultur, die ganz dem Zufall überlassen war und lange Zeit unbeachtet im Laboratorium gestanden hatte. Es war eine Glashafenkultur, die im Oktober 1900 mit *Beggiatoen* aus der Nähe der „Seeburgbrücke“ angesetzt war. Sie zeigte am 2. II. 1902 folgendes Bild: Auf der dem Lichte zugekehrten Seite des Gefässes liegen in der ganzen Höhe der Schlickschicht am Rande grosse *Oscillarien*klumpen, dazwischen, doch weniger zahlreich, Purpurbakterien. Ungefähr 1 cm unterhalb der Oberfläche des Schlickes läuft ringsum eine Zone, die fast ausschliesslich von *B. mirabilis* gebildet wird; nur an der dem Licht zugekehrten Seite wird sie von einigen Kolonien von Purpurbakterien unterbrochen. Diese Schwefelbakterien würden nach den Untersuchungen Winogradsky's¹⁾, nachdem sie den in ihnen aufgespeicherten Schwefel grösstentheils verbrannt haben, in die Tiefe gewandert sein, um sich von Neuem mit Schwefelwasserstoff zu beladen. Die Oberfläche des ganzen Schlickes ist nun mit einer dicken, schmutzigweiss aussehenden Schicht bedeckt, die fast ausschliesslich aus üppigen Fäden der *B. mirabilis* besteht; dazwischen finden sich auch viele Fäden der *B. minima*. An den Rändern des Gefässes zieht sich der Filz zuweilen bis zu 1 cm in die Höhe, an einigen Stellen spinnwebenartig durchbrochen, an anderen gleichmässig ausgebreitet. Noch weiter nach oben kriechen in Bakterienhäuten viele schwefelfreie Fäden der *B. mirabilis* zwischen nur wenigen schwefelführenden umher. — Ueber zwei Monate lang lieferte mir diese Kultur das schönste Material in grosser Menge; schliesslich traten jedoch zahlreiche Diatomeen auf, und allmählich verschwand *B. mirabilis*. Die Oberfläche des Schlickes war nun durch Diatomeen und Eisenbakterien braun gefärbt.

¹⁾ Winogradsky, Ueber Schwefelbakterien. Botanische Zeitung 1887.

Winogradsky¹⁾ betont die grosse Empfindlichkeit der von ihm untersuchten *B. alba*; ich kann dies durch Erfahrungen an den Fäden, die sich gelegentlich einmischten, bestätigen. Meines Erachtens aber ist *B. mirabilis* weit empfindlicher und erheischt eine sehr sorgsame Behandlung. So bemerkt auch Bütschli²⁾: „Wenn ich glaubte, dass ihre Grösse die Untersuchung erleichtern werde, so habe ich mich getäuscht; dieser Umstand wirkt vielmehr erschwerend“. Die Fäden, die man mit einer Pinzette oder einer Nadel aufhebt, sterben ohne Weiteres ab. Unverletzt kann man sie durch Herausnehmen mit dem Ohr einer Platinnadel oder einer Pipette erhalten. Auf diese Weise habe ich, da ich, wie erwähnt, das Schwergewicht meiner Untersuchungen in die Lebendbeobachtung legen zu müssen glaubte, die Fäden auf einen gut gereinigten Objektträger übertragen. Wenn dabei etwas Detritus unter das Präparat kam, so störte dieser nicht; im Gegentheil, er ersetzte das sonst erforderliche Unterlegen von Deckglassplittern unter das Deckglas, damit die dicken Fäden nicht zerdrückt würden. So hielten sich die Fäden bei einiger Vorsicht lange, wenn das verdunstete Wasser langsam ersetzt wurde. Auch fixirtes Material muss mit grosser Vorsicht behandelt werden. So gelingt es z. B. oft nicht, *B. mirabilis* aus 30%igem Alkohol direkt in 80%igen unversehrt zu übertragen. Ebenso oft macht sich ein Schrumpfen unangenehm bemerkbar, wenn vorher entsprechend behandeltes Material aus absolutem Alkohol in Xylol oder Nelkenöl gelegt wird; auch die Einbettung in Kanadabalsam aus Xylol bereitet grosse Schwierigkeiten, da die Fäden fast immer zusammenfallen und so zur weiteren Untersuchung untauglich werden. Ich schloss deswegen ganze Fäden meist in Glycerin ein, weil diese Methode bequemer und weniger gefahrvoll ist. Und zwar erwies es sich als zweckmässig, die in Wasser liegenden Untersuchungsobjekte mit einer kleinen Menge verdünnten Glycerins anzurühren und dann in den Exsiccator zu setzen; dieses Verfahren erfordert allerdings etwas mehr Zeit als die stufenweise Verwendung allmählich concentrirteren Glycerins, es bietet aber eine grössere Sicherheit. Zur langsamen Ueberführung der in Wasser liegenden Fäden in absoluten Alkohol oder aus absolutem Alkohol in Wasser bewährte sich ein Dialysator, wie er von Osterhout¹⁾ beschrieben ist. Auf einen kleinen Glasrichter, der in einem mit eingeschliffenem Glasstopfen verschlossenen, bis etwas über die Höhe des Trichterhalses mit 96%igem Alkohol gefüllten Wägegölchen ruht, wird das in einem Filter aus Pergamentpapier in Wasser liegende Material gesetzt; so wird es allmählich in Alkohol dialysirt. — Ich gebe hier die technischen Notizen mit grösserer Genauigkeit an, als es sonst wohl Brauch ist; bedenkt man aber die mannigfachen Enttäuschungen, die sich ohne Anwendung solcher kleinen Vorsichtsmassregeln eigentlich fortwährend einstellen, so werden diese Einzelheiten für spätere Untersuchungen anderer Forscher an diesem schwierig zu behandelnden Objekt recht willkommen sein.

Wenn ich nun zur Besprechung der Fixirmittel übergehe, so bedarf es wohl nach dem bisher Gesagten keiner weiteren Ausführungen darüber, dass die in der Bakteriologie übliche, übrigens sehr rohe Methode des Antrocknenlassens an das Deckglas wegen des durch

1) l. c.

2) l. c. 1890.

1) Osterhout, Befruchtung bei *Batrachospermum*. Flora, 87. Band. 1900.

den hohen Wassergehalt von *B. mirabilis* hervorgerufenen Zusammenschrumpfens bis zur Unkenntlichkeit hier ausgeschlossen ist. Bei der für die Erforschung der histologischen Details so grossen Wichtigkeit, das Material durch die Fixirung wie im lebenden Zustande zu erhalten, musste besondere Aufmerksamkeit auf die Fixirmethoden verwendet werden. Ich habe verschiedene Flüssigkeiten versucht, so: Alkohol, Pikrinschwefelsäure, Jod in Meerwasser, Sublimat-eisessig, vom Rath'sche Lösung, Jodjodkali, Merkel'sche Lösung, Flemming'sche Lösung, habe dann aber fast ausschliesslich die letzteren drei benutzt. Namentlich die Flemming'sche Lösung (schwaches Gemisch) leistete mir vortreffliche Dienste. Bei der Zubereitung derselben ersetzte ich gewöhnlich das destillierte Wasser durch filtrirtes Seewasser aus dem Kieler Hafen. Die Dauer der Einwirkung des Fixirmittels war verschieden, oft habe ich bis zu 24 Stunden lang fixirt. Dann wurde gründlich ausgewaschen und aus destillirtem Wasser in 96%igen Alkohol dialysirt, weil zunächst der Schwefel entfernt werden musste. War so das Material in 96%igen Alkohol überführt, so war schon der grösste Theil des Schwefels verschwunden. Doch wurden die Objekte immer noch auf längere Zeit, manchmal auf Tage, in absoluten Alkohol gebracht, damit er völlig herausgelöst wurde. In vielen Fällen gelang dies aber auch dann noch nicht, wie auch Winogradsky ¹⁾ fand, dass ein Theil des Schwefels in Alkohol sehr schwer löslich war. Zwar wirken diese kleinen Schwefelreste bei der Untersuchung nicht sehr störend, da man sie auch bei gefärbten Präparaten unschwer an ihrem Lichtbrechungsvermögen erkennen kann; ja, in manchen Fällen erleichtern sie die Beobachtung, indem sie bei Formen, deren Vakuolen eine nur geringe Grösse besitzen, anzeigen, welche von den Hohlräumen als Schwefelvakuolen anzusehen sind. Immerhin habe ich doch, namentlich bei Mikrotomschnitten, auch diese Reste durch längeres Abspülen mit absolutem Alkohol beseitigen können.

Waren die Objekte vollständig entschweifelt, so wurden sie aus Alkohol in Wasser zurückdialysirt und konnten nun gefärbt werden. Da ich aber Material in genügender Menge besass und die Fäden verhältnissmässig gross sind, so gelang es mir, gute Mikrotomschnitte herzustellen, trotzdem beim Ueberführen von einer Flüssigkeit in die andere jedesmal ein kleiner Verlust sich kaum vermeiden liess. Aus absolutem Alkohol wurden die entschweifelten *Beggiatoen* langsam in 3—5 Stufen in Xylol übertragen. In dieser Flüssigkeit kamen sie in den Wärmeschrank bei 45°—50° und daraus in ein bei derselben Temperatur gehaltenes Gemisch von Xylol und sehr wenig Paraffin. Hierin verdunstete allmählich das Xylol, wodurch die Objekte nach und nach in Paraffin überführt wurden; schliesslich wurden sie in reines Paraffin eingebettet. Die Schnitte, die ich gewöhnlich 5—10 μ dick anfertigte, klebte ich mit destillirtem Wasser auf, das ich im Wärmeschrank bei ca. 30° verdunsten liess. Die auf diese Weise erhaltenen Präparate konnten bei der Weiterbehandlung in einem selbst starken Stromes Leitungswasser abgespült werden, ohne dass sie sich ablösten; sie besitzen also den wesentlichen Vortheil, dass sie sich leicht handhaben lassen.

Zur Färbung sowohl der ganzen Fäden wie der Schnitte habe ich verschiedene Flüssigkeiten gelegentlich benutzt, so Safranin, Methylenblau, Cyanin, Hämalun, Bütschli'sches

¹⁾ l. c.

Hämatoxylin, Delafield'sches Hämatoxolin, Carmalaun, kurz, verschiedene der als „Kernfarbstoffe“ gebräuchlichen Lösungen. Vorzügliche Resultate erzielte ich mit Hämatoxylin nach Heidenhain, das ich später fast ausschliesslich verwandte. In 2,5%iger frischer Eisenalaunlösung wurden die Objekte ca. 24 Stunden gebeizt, nach einmaligem Abspülen mit destillirtem Wasser 24 Stunden in 0,5%igem Hämatoxylin (gleichgültig, ob frisch oder ausgereift) gefärbt, nach abermaligem Abschwenken in H₂O unter beständiger mikroskopischer Kontrolle in 0,5%iger frischer Eisenalaunlösung differenzirt und dann meist in Glycerin eingeschlossen.

Die Fäden der *B. mirabilis* sind drehrund. Sie bestehen aus einzelnen aneinander gereihten Zellen, welche durch senkrecht zu der Fadenachse stehende Wände getrennt sind. Eine Verzweigung erfolgt nicht. Einen kurzen Faden habe ich indes gelegentlich beobachtet, der an dem einen Ende zwei Spitzen hatte, indem hier die Endzelle wie die Figuren 3a und 3b (Taf. IV) in zwei verschiedenen Ansichten veranschaulichen, nach zwei Seiten vorgewölbt war. Versuche, diesen Faden zu kultiviren und dabei die offenbar als Missbildung aufzufassende Anlage einer Verzweigung zu weiterem Auswachsen zu veranlassen, misslangen, obwohl er über 8 Tage lebenskräftig blieb. Die Endzellen sind halbkugelig vorgewölbt; jede Gliederzelle ist an der Längswand nach aussen gebogen — beides eine Erscheinung des Turgors (vergl. hierzu die Uebersichtsbilder 1 und 2).

Die Länge der Fäden ist ganz verschieden und giebt kein Charakteristikum ab. Ich habe Fäden gesehen, die aus nur wenigen, etwa 10 Zellen bestanden und anderseits wahre Riesen, die weit über 1000 Zellen enthielten. Diese hatten mitunter eine Länge bis zu 1,5 cm; auf dem Habitusbild der Glashafenkultur (siehe die Textfigur) sind solche Exemplare eingezeichnet; man kann sie mit blossen Auge gut erkennen.

Auch die Dicke schwankt sehr, wie schon frühere Beobachter betont haben. Von der dünnsten *B. minima* finden sich bis zur dicksten *B. mirabilis* die verschiedensten Maasse, und doch ist die Dicke für jeden Faden konstant, wie Winogradsky¹⁾ zu beweisen gesucht hat. Ich habe bei *B. mirabilis* nicht nachgeprüft, ob ein Dickenwachsthum der Fäden erfolgt, da dies nur durch fortgesetztes Kultiviren zu eruiren wäre, und sich dem, ganz abgesehen davon, dass es zu weit von meinem Thema abgeführt hätte, grosse Schwierigkeiten entgegenstellen. Dennoch glaube ich bestimmt, dass auch hier der Durchmesser eines jeden Fadens derselbe bleibt, auch für die von ihm abstammenden neuen Fäden. Es ergiebt sich hieraus, dass die Klassifikation der *Beggiatoaceen* nur auf konventionellen Prinzipien beruhen kann, indem man z. B. sagt, wie es Winogradsky²⁾ gethan hat: bis zu 1 μ Fadendicke — *B. minima*, 1 bis 2,5 μ — *B. media*, 2,5 bis 4 μ — *B. alba*, dann etwa *B. arachnoidea* und *B. mirabilis*. Von welcher unteren Grenze an man einen Faden zu *B. mirabilis* rechnen soll, lässt sich auch wieder nur nach Uebereinkunft bestimmen, da sich die Uebergänge zu *B. arachnoidea* in mannigfaltigster Zahl finden. Ich habe im Allgemeinen die Formen von ungefähr 20 μ Dicke

¹⁾ l. c.

²⁾ Winogradsky, Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Bakterien. Heft 1. Leipzig 1888.

zu *B. mirabilis* gezogen, Die *B. mirabilis*, die Massart¹⁾ seinen Untersuchungen zu Grunde legte, würde demnach kaum schon dieser Spezies einzureihen sein, da er als Maximum ihrer Dicke 16 μ angiebt. Warming²⁾ notirt für den Durchmesser 20—40 μ , Engler³⁾ 20—30 μ . Man findet in jedem Präparat, das man anfertigt, die verschiedensten Dicken; in der vorläufigen Mittheilung⁴⁾ habe ich als das Höchstmaass 45 μ bezeichnet. Im Grossen und Ganzen wird dies auch zutreffen, doch habe ich seitdem auch eine gigantische *B. mirabilis* von 55 μ Durchmesser gemessen.

Cohn⁵⁾ hat bei seinen Abbildungen die Zellen nahezu quadratisch gezeichnet. Bei den dünneren Formen der *B. mirabilis* ist dies die Regel; bei den dickeren dagegen herrscht auf dem Längsschnitt die Gestalt des Rechteckes vor, wie auch bei den Warming'schen und Engler'schen Abbildungen zu erkennen ist. Und zwar ist dies meist derart, dass die längere Seite, den Querwänden entsprechend, etwa doppelt so gross ist wie die kürzere (Figg. 1. u. 2).

Die Wände, welche die Zellen umgeben, zeigen verschiedene Stärke. Die Längswand ist stets mächtiger als die Querwand, dergestalt, dass sie deren doppelte Dicke erreichen oder dieses Maass noch überschreiten kann. Bei einem 29 μ dicken Faden ergab sich durch Messung mit dem Okularmikrometer für die Längswand eine Dicke von ca. $\frac{1}{2}$ μ . Beide erscheinen doppelt kontourirt. Die Biegungsfestigkeit der Membran ist eine sehr grosse. Man kann dies sehr schön beobachten, wenn sich ein Faden in lebhafter Bewegung befindet. Da kommt es häufig vor, dass er auf Hindernisse stösst, etwa auf Schmutzpartikelchen. Es erfolgt dann eine Biegung, und zwar ist diese manchmal so stark, dass sie weit über einen rechten Winkel hinausgeht. Die Querwände werden dabei derart vorgewölbt, dass sie in die Nachbarzelle hineinragen. Oefters trifft es sich auch, dass von beiden Seiten ein Druck auf den Faden ausgeübt wird, sodass er sich durch dieses Hinderniss hindurchzwängen muss. Auch hier wird die Dehnungsfähigkeit der Querwände stark in Anspruch genommen. Ich habe gesehen, dass sie ganz verbogen werden können, sodass sie sich sogar schleifenförmig zusammenlegen und geringe Drillungen aufweisen. Dabei erfolgt aber kein Zerreißen; wenn das Hinderniss überwunden ist, nehmen die Wände wieder ihre normale Lage ein. Es zeigt sich also eine grosse Elastizität der Membranen, die Cohn⁶⁾ Flexibilität nannte.

Von sonstigen physikalischen Eigenschaften der Wände ist am interessantesten die verschiedene Quellbarkeit der die Längswand bildenden Schichten. Legt man einen Faden von *B. mirabilis* in Chlorzinkjod, so ist sie nach einiger Zeit gespalten, indem sich eine äussere Schicht abgelöst hat. Diese erscheint doppelt kontourirt, ebenso wie der bei den Zellen verbleibende Rest der Membran. In Fig. 4 ist ein Stück eines Fadens gezeichnet, der $\frac{1}{2}$ Stunde in konzentrirtem Chlorzinkjod gelegen hatte. An verschiedenen Stellen war die Spaltung der Längswand eingetreten; bei a ist sie unterblieben, sodass man sehr schön den Uebergang der

1) l. c.

2) l. c.

3) l. c.

4) l. c.

5) l. c.

6) l. c.

beiden Schichten in einander wahrnimmt. Der Inhalt dieser Zellen war so deformirt, dass Einzelheiten nicht mehr erkannt werden konnten; auch die Querwände waren völlig verquollen. Die Zellen schrumpfen in der Lösung zusammen, besonders in der Längsrichtung des Fadens. Daher kommt es, dass man zuweilen an den Enden die äussere Schicht weit abgehoben findet, und dass die Zellen sammt der inneren Schicht wie ein Schlauch sich kontrahirt haben. Dass hier keine Scheidenbildung ähnlich der der *Oscillarien* vorliegt, beweisen die Einkerbungen, die man an der äusseren Schicht dann und wann beobachten kann. Daraus geht hervor, dass diese mit der inneren Schicht zusammen eine feste Einheit gebildet hat, die nur durch das Quellungsmittel gelöst ist. Auch zeigt sich dabei, dass die Querwände die ganze Längswand durchsetzen; sonst würde ja auch die durch den Turgor hervorgerufene Wölbung der Längswand nach aussen sich nicht auf deren äusserste Schicht erstrecken. Dieselbe Spaltung der Längswand kann ferner noch durch andere Reagentien hervorgerufen werden, so durch 60%iges Chloralhydrat, konzentrirte Schwefelsäure, Salpeterlösung und kochende Kalilauge. Ohne Einwirkung von Quellungsmitteln fand ich die Längswand bei abgestorbenen Fäden gespalten. Bemerkenswerth ist, dass sich nicht die gesammte Längswand eines Fadens wie eine Hülle ablöst, sondern nur an einigen Stellen, zumeist an der Spitze. Durch Kalisalpetet erfolgt nur eine momentane Spaltung; nach kurzer Zeit legt sich die äussere Schicht wieder an die innere an.

Die Querwand lässt dagegen nichts von diesen Erscheinungen erkennen. Bei einigen Fäden ist sie überhaupt schwer zu sehen, sodass man hier vielleicht auf den Gedanken kommen könnte, die einzelnen Zellen wären nur durch dichteres Protoplasma, keine eigentliche Membran, getrennt. Diese Ansicht spricht auch wirklich Massart¹⁾ aus. Dass dem aber nicht so ist, beweist, abgesehen von Reaktionen, die noch zu betrachten sein werden, die Thatsache, dass die Wand in Chloralhydrat aufquillt, sodass sie zeitweilig sehr schön sichtbar wird, und ferner, dass man gelegentlich abgestorbene Fäden findet, in denen die einzelnen Zellen von einander getrennt sind. Beide haben dann eine scharfe Begrenzung; doch nur die eine zeigt die doppelt kontourirt erscheinende Querwand, während bei der anderen nur das Protoplasma, das ihr angelegen hatte, sichtbar ist.

Bei der Prüfung der chemischen Eigenschaften der Zellwand war zunächst daran zu denken, dass sie aus Cellulose, wie die meisten pflanzlichen Zellwände, bestehe. Doch versagten die üblichen Reagentien (Chlorzinkjod, Jod und Schwefelsäure); auch ein Versuch, sie in Kupferoxydammoniak zu lösen, misslang. Van Wisselingh²⁾ hat bei Pilzen den Nachweis erbracht, dass ihre Wände aus Chitin gebildet werden. Die von ihm benutzte Methode habe ich auch auf *B. mirabilis* angewendet. In einem zugeschmolzenen Glasröhrchen wurden Fäden in konzentrirter Kalilauge auf dem Oelbade bis auf 160° erhitzt und, nach dem Auswaschen der KOH mit Glycerin, in Wasser überführt. Mit Jodjodkali nahmen nach dieser Behandlung die Zellwände eine gelbe Färbung an, die nach Zusatz von schwefelsäurehaltigem Wasser

¹⁾ l. c.

²⁾ Van Wisselingh, Mikrochemische Untersuchungen über die Zellwände der *Fungi*. Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik. 31. Bd. 1898.

verschwand; das Ausbleiben der Mycorinreaktion gestattete den Schluss, dass Chitin in den Wänden nicht vorhanden sei. — Eine schöne Blaufärbung der Membran erzielte ich mit Formolfuchsin nach A. Meyer¹⁾. Von einer 0,2%igen Lösung von Rutheniumroth wurde ein Tropfen zu dem in Wasser liegenden Material hinzugesetzt: die Längs- wie die Querwand färbte sich intensiv. Ebenso rief Safranin in Wasser eine orangerothe Färbung derselben hervor. Dass beide Schichten der Längswand sich färben, konnte an Präparaten erwiesen werden, bei denen vorher die Spaltung durch Chlorzinkjod herbeigeführt war. Die Wände geben also die Reaktionen der sogenannten Pektinstoffe; allerdings lässt sich damit noch nicht behaupten, dass sie lediglich aus denselben bestehen, was indess nicht unwahrscheinlich wäre.

Versuche, die Zellen zu plasmolysiren, misslangen. Ich benutzte zunächst 20%ige Rohrzuckerlösung; das Plasma hob sich nicht ab, sondern der ganze Faden schrumpfte zusammen, wobei die Vakuolen scharf hervortraten. Auch Anwendung von Glycerin lässt nur Schrumpfungen wahrnehmen. 2½%ige und 5%ige Kalisalpetrolösung wirkten derart, dass an einer Stelle momentane Spaltung der Membran eintrat, oder der ganze Faden sich zusammenzog. Die Zellwand besitzt demnach für die angewandten Substanzen einen hohen Filtrationswiderstand.

Den Zellwänden liegt allseitig wie bei anderen Pflanzenzellen das Protoplasma an. Dieser Wandbeleg bildet zuweilen dicke Schichten (Fig. 14) oder grössere Klumpen (Fig. 13). In anderen Zellen wiederum kann er so zart entwickelt sein, dass man auf den ersten Blick meint, er sei durch grosse Vakuolen durchbrochen. So veranschaulicht Fig. 2 mehrere derartige Zellen, die bei Einstellung auf die Oberfläche des Fadens gezeichnet wurden. Von dem wandständigen Protoplasma ziehen sich nun durch das Lumen der Zelle Plasmaplatten hindurch, bald als dünne Häute, bald von ansehnlicherer Dicke (Fig. 1). Dadurch entstehen im Innern der Zellen Hohlräume, die mit Zellsaft erfüllt sind. Diese Vakuolen finden sich meist nur in einer Reihe angeordnet (Fig. 2); eine einzige Zelle kann so im Maximum deren bis zu 5 enthalten. Wenn die Plasmaplatten unter einander verbunden sind, werden zwei und mehrere Reihen von Vakuolen gebildet. Doch tritt dies gewöhnlich nur in einem Theil der Zelle auf (Fig. 1). Infolge der mannigfachen Einschlüsse, die das Protoplasma birgt, ist es schwer, dessen Struktur zu erschliessen. Es macht in der Regel einen homogenen Eindruck, man sieht eine farblose Masse, die häufig auch einen grauen oder grünlichen Farbenton annimmt. Bei fixirtem, entschwefeltem Material ist es feinwabig-körnig; bei einem Mikrotomschnitt, der in Chlorzinkjod gelegen hatte, erschien es schaumig. Eine Strömung im Protoplasma ist nicht wahrzunehmen. Bei absterbenden Fäden tritt dagegen eine lebhaftere Bewegung im Innern der Zelle ein. Die Absterbeerscheinungen sind ganz eigenthümlich und können, wenn man sie nicht als solche erkennt, leicht zu irrthümlichen Deutungen Anlass geben. Zunächst verschwinden die scharfen Begrenzungen des Plasmas gegen die Vakuolen; dann sieht man im Innern der Zellen Zusammenballungen. Zu diesen gehören auch die von Engler²⁾ beschriebenen und abgebildeten Kugeln; ich habe häufig derartige Vorgänge, wenn auch meist in weniger regelmässiger Anordnung als

1) A. Meyer, Ueber Geisseln, Reservestoffe, Kerne und Sporenbildung der Bakterien. Flora. 86. Bd. 1899.

2) l. c.

sie Engler darstellt, beobachtet. Diese runden Körper sind anfangs homogen und durchscheinend, nach einiger Zeit geht aber ihr Inhalt in schnelle Bewegung über. Es wirbelt dann im Innern eine grosse Zahl kleiner Körnchen umher (Fig. 21); das sind die von mir beschriebenen Amylinkörner. Auch ein Austreten der Kugeln aus dem Protoplasma, wie es Engler angiebt, kann man gelegentlich sehen; Abbildung 21 zeigt ein solches Stadium; man bemerkt in dem herausgequollenen Inhalt die runden Körper. In anderen Fällen schwillt die Zelle vor dem Zerreißen zu einer anormalen Grösse an; so ist in Fig. 5 eine Anzahl absterbender Zellen gezeichnet, in denen viele Amylinkörner sich lebhaft bewegen; auch die folgenden Zellen befinden sich in ähnlichem Zustande. Die Zellwand ist bei solchen angeschwollenen Zellen nicht mehr doppelt kontourirt; der Uebergang zu den noch lebenden, mit einer doppelt kontourirten Membran umgebenen Zellen ist sehr scharf (Fig. 5). Zu den Absterbeerscheinungen sind ferner die von Cohn¹⁾ beschriebenen Kontraktionswellen zu rechnen, die er aber für eine den Fäden von *B. mirabilis* allgemein zukommende Eigenthümlichkeit hält. Bei nicht mehr lebenskräftigen Zellen treten nicht selten Schrumpfungen auf, denen wieder momentane Ausdehnung folgen kann. Cohn²⁾ sagt auch: „Aehnliche Ringelungen, Zuckungen und Krümmungen zeigten sich aber auch an anderen, namentlich den stärker gebeugten Stellen des Fadens, bis sie mit dem Absterben desselben aufhörten“.

Die auffälligsten Einschlüsse im Protoplasma sind die Schwefeltropfen. In der Litteratur werden sie gewöhnlich als „Schwefelkörner“ bezeichnet; dies erweckt den Eindruck, als ob es feste Körper seien. Dass dem jedoch nicht so ist, hat schon Winogradsky³⁾ und später Bütschli⁴⁾ bewiesen. Es sind vielmehr zähflüssige Tröpfchen, die aus Schwefel bestehen. Ein Zusammenfliessen derselben findet nicht bei lebenden Zellen statt, doch kann man bei abgestorbenen häufig derartige Vorgänge sehen. In einem Faden, der zwei Tage in conc. Schwefelsäure gelegen hatte, waren sie zu einer formlosen Masse verschmolzen, zum Theil zeigten sich darin auch Krystalle. Die Schwefeltropfen sind durch das ganze Protoplasma vertheilt. Ein bevorzugter Ort scheint der Wandbeleg zu sein; hier finden sich die meisten. Doch ist das auch ganz erklärlich, da hier die grösste Masse des Protoplasmas liegt. Ihre Grösse ist eine ganz verschiedene (Figg. 1, 2, 19, 20); von kleinen Kugeln, die bei 1500facher Vergrösserung wie ein Punkt erscheinen, giebt es Uebergänge bis zu den grossen Tropfen, deren Durchmesser $\frac{1}{3}$ mm beträgt. Ob ein Wachsthum der Schwefeltropfen stattfindet, konnte ich nicht direkt verfolgen, doch ist dies ohne Weiteres anzunehmen. Denn wenn man schwefelfreien *Beggiatoen* H_2S zuführt, so erscheinen nach einiger Zeit im Protoplasma sehr kleine Schwefeltröpfchen. Da die normale Grösse derselben eine weit beträchtlichere ist, so folgt daraus, dass sie an Volumen zunehmen müssen. Andererseits kann man auch eine Abnahme der grossen Kugeln bemerken, wenn man *B. mirabilis* in Hungerkultur bringt, d. h. in Wasser, welches nur wenig oder gar keinen Schwefelwasserstoff enthält. Dann werden die Tröpfchen immer kleiner und verschwinden schliesslich ganz. Der Nachweis, dass sie wirklich aus Schwefel

¹⁾ l. c.

²⁾ l. c. 1867.

³⁾ l. c. 1887.

⁴⁾ l. c. 1896.

bestehen, ist von Bütschli¹⁾ nochmals erbracht worden; ich verzichtete deshalb auf diesbezügliche Untersuchungen. Es sei hier nur die gelegentliche Beobachtung verzeichnet, dass die Schwefeltropfen sich bei längerer Einwirkung von Osmiumsäure tief dunkelbraun bis schwarz färben.

In einem Uebersichtspräparat eines Fadens, der in conc. Glycerin eingeschlossen war, fand ich nach einigen Monaten bei gelegentlicher Durchsicht sehr schöne Schwefelkrystalle. Diese sassen dem Faden auf. Und doch waren an der Zellwand keine Spuren von Zerreibungen zu entdecken. Bütschli¹⁾ erwähnt einen ähnlichen Fall, wo nach Aufkochen mit Wasser der Schwefel verschwunden war, ohne dass die Wände verletzt erschienen. In einer neueren Arbeit²⁾ findet Bütschli die Erklärung dieser zunächst auffälligen Erscheinung darin, dass der flüssige Schwefel in Wasser und Glycerin löslich ist und deswegen durch die Zellwände hindurchdiffundiren konnte. An dem Präparat waren von zähen Klumpen, die noch keine Krystallform aufwiesen, durch in der Umkrystallisierung befindliche Massen bis zu den fertig ausgebildeten scharf umgrenzten Krystallen alle Stufen vertreten (Fig. 6). Im Allgemeinen waren es monokline Platten, auch kleine Nadeln kamen vor. Zwei ausserordentlich grosse, sehr dünne farblose Tafeln lagen neben dem in Fig. 6 dargestellten Faden; an der grösseren konnte die Auslöschungsrichtung mit dem Polarisationsmikroskop ermittelt werden: bei gekreuzten Nicols trat parallel der Längsrichtung der Tafel Dunkelheit ein. Eine regelmässige Zwillungsbildung stellt Fig. 7 dar; in jedem der Einzelindividuen war am Ende ein Hohlraum zu erkennen, der vermuthlich mit Flüssigkeit erfüllt ist. In einem anderen Präparat, das in Glyceringelatine eingeschlossen war, herrschten die Pyramiden vor (Fig. 8 a, b, c). Krystallographisch liessen sich die Krystalle nicht bestimmen; aus den Zeichnungen, die genau mit dem Zeichenapparat entworfen sind, lässt sich aber ersehen, dass sie dem monoklinen System angehören.

Der Schwefel hat nach den Untersuchungen Winogradsky's³⁾ im Stoffwechsel der *Beggiatoen* eine grosse Bedeutung; er ist eine Zwischenstufe der Oxydation des Schwefelwasserstoffes zu Schwefelsäure, eines Prozesses, der eine grosse Menge disponibler Energie liefert. Unter günstigen Bedingungen kann die Verbrennung des H₂S nur bis zu Schwefel fortschreiten, der dann gewissermassen als Reservestoff gespeichert und je nach Bedarf weiter oxydirt wird. Reservestoffe im eigentlichen Sinne, die zunächst magazinirt werden und, wenn erforderlich, dazu dienen, neue Theile des Körpers aufzubauen, sowie Energie zu liefern, werden bei *B. mirabilis* zuweilen in grossen Mengen gebildet. Fette finden sich nicht in den Zellen. Behandelt man Fäden mit Osmiumsäuredämpfen oder 2%iger Osmiumsäurelösung, so erfolgt keine Schwärzung. Auch die von A. Meyer⁴⁾ empfohlenen Farbstoffe Dimethylamidoazobenzol und Sudan III geben keine Reaktion.

Dagegen tritt hier ein Kohlehydrat als Reservestoff auf. Ich habe dieses in der vorläufigen Mittheilung⁵⁾ mit dem Namen Amylin belegt; diese Bezeichnung wurde deshalb so

¹⁾ l. c. 1896.

²⁾ Bütschli, Untersuchungen über Mikrostrukturen des erstarrten Schwefels nebst Bemerkungen über Sublimation, Ueberschmelzung und Uebersättigung des Schwefels und einiger anderer Körper. Leipzig 1900.

³⁾ l. c. 1887.

⁴⁾ l. c.

⁵⁾ l. c.

gewählt, weil es offenbar eine nahe Verwandtschaft zur Stärke (Amylum) besitzt. Cohn¹⁾ vermuthete in den „stark lichtbrechenden Körnchen“ im Protoplasma ein Kohlehydrat, er hielt sie für Paramylum. Doch geht aus seiner Zeichnung klar hervor, dass er mit diesen Körnchen nicht das Amylin, sondern die Schwefeltropfen meint, deren Natur nach Winogradsky²⁾ erst später (1870) von Kramer erkannt wurde.

Betrachtet man eine Zelle von *B. mirabilis* genauer, so bemerkt man in ihr neben den Schwefeltropfen kleine glänzende Körnchen; sie liegen regellos im Protoplasma zerstreut, zuweilen in grosser Menge, sodass manche Zellen ganz vollgestopft sind. Diese Körnchen haben verschiedene Grösse. Einmal sind in geringer Zahl grössere anzutreffen, die etwa den Durchmesser eines mittleren Schwefeltropfens besitzen. Eine Verwechslung ist jedoch ausgeschlossen, da die Schwefeltropfen gelblich aussehen und dunkel umrandet sind. Selten sind diese grösseren Körnchen rund, meist haben sie ovale Form (Fig. 9). Neben ihnen und sie meist an Zahl weit überwiegend finden sich kleine Kügelchen, deren Grösse indess auch, wenn auch nur innerhalb kleiner Grenzen, schwanken kann. Manche Zellen enthalten von den grösseren ovalen Amylinkörnchen vielleicht nur 1—3, während die Anzahl der kleineren Kugeln über 100 betragen kann (Fig. 10). In anderen Zellen wiederum sind relativ viele von den grösseren vorhanden, und die kleineren treten an Menge zurück (Fig. 9). Diese Körner haben Engler³⁾ und Bütschli⁴⁾ bereits beobachtet, ohne dass sie jedoch ihre Natur erkannt hätten. Anfangs war ich geneigt, in ihnen Physoden zu sehen; dagegen sprach aber ihr variables Auftreten und ihre Grösse. Da erhielt ich bei Prüfung der Wände auf Cellulose mittels Chlorzinkjod im Protoplasma eine dunkle Färbung; die weiteren Untersuchungen ergaben nun, dass ein Kohlehydrat magazinirt war. Um dieses klar hervortreten zu lassen, benutzte ich als Stammlösung Jodjodkali nach Lugol. Davon wurden zu 15 ccm destillirtem Wasser 25—30 Tropfen gesetzt, und von der so erhaltenen Mischung eine kleine Menge durch das unter Deckglas liegende Präparat hindurchgesogen. Der Farbenton, der durch die Jodlösung hervorgerufen wird, ist nicht immer derselbe. Im Allgemeinen tritt bei geringer Konzentration des Jods eine braunrothe bis dunkelbraunrothe Färbung auf, und dann bei Anwendung von etwas mehr Jod eine schwarzblaue. Es kommt eben genau auf die Konzentration des Jods an; man kann zuweilen in derselben Zelle die Verschiedenheit der Färbung sehen, indem die kleinen Amylinkörnchen schon tief dunkel gefärbt sind, während die grösseren noch ein helleres Blau zeigen. Bei vollständiger Wirkung des Jods ist die blaue bis blauschwarze Farbe die Regel. Dennoch erscheint die Schwankung zunächst auffallend; doch ist darauf nicht zu viel Gewicht zu legen, da einmal, wie schon betont, die Konzentration des Jods wechseln kann. Sodann hat man ja auch bei der Kartoffelstärke, dem typischen Beispiel für die Blaufärbung mit Jod, verschiedene Nuancen, z. B. bei zu viel Jod eine sammetschwarze Farbe; ferner erzielt man durch Jodbehandlung schon bei der Kartoffelstärke ein anderes Blau wie bei der Reisstärke. Endlich mögen auch die Beleuchtungsverhältnisse bei der immerhin subjektiven Beurtheilung der Farben von Bedeutung

1) l. c. 1867.

2) l. c. 1887.

3) l. c.

4) l. c. 1890.

sein. Die Blaufärbung der Amylinkörner stellt sich immer sehr schön ein, wenn man nach Jodbehandlung Glycerin ($\frac{1}{2}$ Glycerin, $\frac{1}{2}$ Wasser) durchsaugt; da erhält man eine fast typische Stärkefärbung. Falls man eine Zelle einer höher organisierten Pflanze vor sich hätte und sähe diese Reaktion, man würde keinen Augenblick zweifeln, dass hier Stärke gespeichert sei. Hat man dagegen zu wenig Jod verwendet und hellt dann mit Glycerin auf, so erscheint das Amylin mehr violett, es mischt sich also ein rother Ton ein.

Da man bei *Oscillarien* ein Kohlehydrat gefunden hat, das sich als Glykogen erwies, so lag nach den bisweilen dunkelbraunrothen Färbungen des Amylins die Vermuthung nahe, dass bei *B. mirabilis* auch Glykogen vorhanden sei. Doch belehrten die Mikrotomschnitte eines Anderen. Glykogen ist leicht in Wasser löslich, es diffundirt jedoch nicht durch die Zellwand. Infolgedessen konnte bei ganzen Fäden keine Entscheidung getroffen werden. Dagegen fiel bei den Mikrotomschnitten der Einwand, dass etwa vorhandenes Glykogen nicht habe aus den Zellen herausgelöst werden können. Ich legte nun solche Schnittpräparate längere Zeit, oft auf einige Tage, in Wasser; immer ergab dann Jod noch sehr schöne Färbungen. Als ein weiteres Merkmal des Amylins ist die Löslichkeit in Speichel zu verzeichnen. In Mikrotomschnitten, die etwa einen Tag über in Speichel gelegen hatten, war fast alles Amylin herausgelöst, nach längerer Einwirkung des Speichels waren keine Spuren mehr nachweisbar. Die Löslichkeit ist also eine langsame, indess eine vollständige. Ob die Amylinkörner feste Massen sind oder, ähnlich den Schwefeltropfen, sich in einem zähflüssigen Zustande befinden, lässt sich nicht mit Bestimmtheit sagen; ich möchte aber nach Analogie der Stärke das Erstere annehmen. Bei den grösseren Körnern konnte nach Jodbehandlung bei bestimmter Einstellung im Innern ein heller Hof erkannt werden; dies deutet darauf, dass es kugelförmige, bezw. eiförmige Gebilde sind.

Wie ich bereits erwähnte, liegen die Amylinkörner regellos im Protoplasma vertheilt; auf demselben Grunde, aus dem auch die Schwefeltropfen den Wandbeleg zu bevorzugen scheinen, beruht es, dass man sie gelegentlich in der Nähe der Zellwände antrifft: hier ist eben eine grössere Anhäufung von Protoplasma. Und zwar sind die Amylinkörner in den meisten Zellen dem Plasma einzeln eingebettet. Nun habe ich mehrmals Fäden beobachtet, in denen grosse Klumpen angehäuft waren. Ohne Anwendung von Jod kann man über deren Natur zweifelhaft sein, vor allem auch deswegen, weil darin meist keine Einzelheiten zu erkennen sind. Setzt man aber Jod zu, so lösen sich diese Ballen in eine grosse Zahl von Amylinkörnern auf (Fig. 11). Auf welchen Ursachen diese Zusammenlagerung beruht, konnte ich nicht entdecken. Doch kamen solche Klumpen fast nur in Zellen vor, die unter ungünstigen Bedingungen lebten, sei es, dass sie gar keinen oder nur sehr wenig Schwefel enthielten, sei es, dass sie dem Tode nahe waren. Vielleicht hat folgende Erklärung die Wahrscheinlichkeit für sich. Bei Mangel an Schwefelwasserstoff benutzt die Zelle die ganze durch die Verbrennung desselben zu Schwefelsäure disponibel gewordene Energie, um sich für die bevorstehenden schlechten Zeiten mit Reservestoffen, also dem Amylin, zu beladen. Dabei geht die Bildung desselben so schnell vor sich, dass die einzelnen Körnchen direkt, ohne dass sich Protoplasma einschiebt, neben einander zu liegen kommen und zusammenkleben. Dies würde allerdings auf

einen zähflüssigen Zustand der Amylinkörner deuten, aber nur für den Moment ihres Entstehens. Denn dass sie nachher fest sind, beweisen die Erscheinungen beim Absterben solcher Zellen, in denen Amylinklumpen vorkommen. Auch hier tritt eine starke Bewegung im Protoplasma ein, und dabei zerfallen diese Anhäufungen in die einzelnen sie zusammensetzenden Körner, die dann in der Zelle herumwirbeln.

Einer eigenthümlichen Erscheinung sei hier noch Erwähnung gethan, der man zuweilen bei dem Amylin begegnet. Man bemerkt nämlich nach Anwendung der Jodreaktion zwischen den einzelnen blau gefärbten Körnchen eine braune Masse, der sie eingelagert sind (Fig. 12). Am Rande eines Klumpens kann man auch dann und wann eine Amylinkugel etwas vorspringen sehen, sodass man den Eindruck gewinnt, als seien bestimmte Organe in der Zelle, an oder in denen das Amylin entsteht. Dem widerspricht jedoch das seltene Auftreten dieser Bildungen. Hier ist wohl durch die Deutung Aufschluss zu geben, dass kleine Plasmamassen zwischen den Körnchen eingeschlossen sind, die nun durch das Zusammenkleben derselben zusammengepresst wurden, ein dichteres Gefüge annahmen und deswegen auch das Jod stärker speicherten; doch kann auch nur eine optische Erscheinung vorliegen.

Die typische Granulosereaktion, welche die Buttersäure- und einige in der menschlichen Mundhöhle vorkommenden Bakterien geben, eine bläuliche bis schwarzviolette Färbung mit Jod¹⁾, stellt sich bei *B. mirabilis* nicht ein, da oft bei Anwendung von geringen Jodmengen ein bräunlicher Ton bemerkbar wird. Bütschli²⁾ hat gelegentlich beobachtet, dass sich in *Chromatium* und *Ophidomonas jenensis* mit Jod eine Substanz blauroth färbt, deren Form festzustellen ihm allerdings nicht gelungen ist. Aus dieser kurzen Notiz kann ich einen Vergleich mit meinem Amylin nicht ziehen, doch halte ich es nach der angegebenen Farbenreaktion für unwahrscheinlich, dass eine Identität besteht. Auch mit dem von A. Meyer³⁾ bei *Granulobacter butylicum* gefundenen Kohlehydrat stimmt es in seinen Eigenschaften nicht überein. Zunächst ist die Jodkonzentration, die zur Färbung des Amylins erforderlich ist, eine viel stärkere als bei *Granulobacter*. Während ferner mit einer geringen Jodmenge bei diesem eine blaue, bei stärkerer Jodlösung eine rothbraune Färbung eintritt, liegen bei *B. mirabilis* fast die umgekehrten Verhältnisse vor: erst bei genügend starker Jodkonzentration stellt sich Blaufärbung ein. Demnach gelingt es nicht, das Amylin der *B. mirabilis* mit einem der bisher bei Bakterien bekannt gewordenen Kohlehydrate zu identifizieren, und daher ist die Einführung dieser neuen Bezeichnung gerechtfertigt.

Bei der ansehnlichen Grösse der *B. mirabilis* möchte man fast vermuthen, dass man hier ohne Schwierigkeit einen Zellkern finden könne. Doch wie viele lebende Zellen man auch untersuchen mag, man wird kein Organ in ihnen wahrnehmen, das man als den Kern ansprechen könnte. Zwar sieht man das Protoplasma, in dem die Schwefeltropfen und andere Einschlüsse, wesentlich Amylinkörner, lagern, sehr schön; ein geformter Zellkern ist dagegen nicht zu erkennen. Jeder, der unbefangen eine lebende Zelle beobachtet, wird das ohne Weiteres

1) Vergl. A. Fischer, Vorlesungen über Bakterien. 1897 p. 13.

2) l. c. 1890.

3) l. c.

zugeben. Nun fragt es sich nur: Ist in einer abgetöteten, entsprechend gefärbten Zelle ein Kern oder ein Homologon desselben zu entdecken? Ich habe, wie eingangs erwähnt, die verschiedensten, zum Nachweis des Zellkernes üblichen Färbemittel angewendet und auch damit kein Gebilde sichtbar machen können, das einen Zellkern darstellte. An manchen Fäden bemerkt man allerdings, wenn man sie bei schwacher Vergrößerung durchmustert, im Innern der Zellen einen grossen intensiv gefärbten Komplex, den man vielleicht, hätte man eine höher organisierte Pflanzenzelle vor sich, für den Kern halten würde. Doch belehrt die starke Vergrößerung über den begangenen Irrthum. Da sieht man klar, dass hier nur eine Anhäufung von Protoplasma vorliegt, die deshalb, weil sie eine dicke Schicht darstellt, auch stärker gefärbt erscheint; sie geht ohne scharfe Umgrenzung allmählich in die Platten, welche die Zelle durchziehen, oder in das wandständige Protoplasma über. In Fig. 13 sind bei starker Vergrößerung einige solcher Zellen genau wiedergegeben.

Bütschli ¹⁾ ist zu einer ganz anderen Auffassung der Zelle von *B. mirabilis* gekommen; allerdings erklärt er, dass er seine Studien noch nicht genügend abgeschlossen habe. Er sagt: „Ein kolossaler Centralkörper bildet die Hauptmasse der Zelle und enthält eine sehr grosse Vakuole, in deren Innern man an lebenden Zellen kleine blasse Körperchen in Molekularbewegung bemerkt. In der relativ dünnen Wand des Centralkörpers liegen die Schwefelkörner. Zwischen der Oberfläche des Centralkörpers und der Membran findet sich eine dünne einfache Lage von Plasmawaben der Rindenschicht. Feine rothe Körnchen lassen sich nach Hämatoxylinfärbung im Centralkörper nachweisen“. — Zunächst sei hierzu bemerkt, dass Bütschli nur kleinere Formen von *B. mirabilis* untersucht haben kann, wie aus den Worten, dass der Centralkörper eine sehr grosse Vakuole enthält, hervorgeht — bei den dickeren Fäden sind es fast immer mehrere Vakuolen. Ferner scheint er auch nicht recht frisches lebendes Material gehabt zu haben; die Erscheinung, dass in der Vakuole „kleine blasse Körperchen“ — das sind vermuthlich Amylinkörner — sich in Molekularbewegung befinden, tritt bei kränkenden, absterbenden Zellen ein. Doch abgesehen davon habe ich, wie erwähnt, bei der grossen Zahl lebender wie fixirter, gefärbter wie ungefärbter Fäden in keiner einzigen Zelle die von Bütschli angegebenen Verhältnisse beobachten können. Weder bei lebendem noch auch an abgetötetem Material sieht man im Protoplasma irgend eine Sonderung, die zu einer Unterscheidung zwischen einem Centralkörper und einer Rindenschicht berechtigen könnte. Da der Schwefel immer im Protoplasma lagert und Bütschli nur solche Fäden beschreibt, bei denen sich durch die centrale Vakuole Protoplasma nicht hindurchzieht, so ist es selbstverständlich, dass dieser dann im Wandbeleg anzutreffen ist. Aber hier nicht bloss in einer bestimmten Zone, der „relativ dünnen Wand des Centralkörpers“, sondern im ganzen Wandbeleg. Ja, oft liegt er dicht den Wänden an, an der Stelle also, wo man die Bütschli'sche Rindenschicht suchen müsste. Ferner spricht auch gegen die Bütschli'sche Auffassung der Zelle von *B. mirabilis* die Lage der Kohlehydrate, die dann sowohl in der Rindenschicht wie im Centralkörper gespeichert wären. Dass überhaupt ein Kernäquivalent oder ein Kern sich mit einer grossen Menge von Reservestoffen versieht, ist ohne ein Analogon in der Biologie. — Durch

¹⁾ l. c. 1890.

die Arbeit von Massart¹⁾ ist meine Widerlegung des Bütschli'schen Centralkörpers bei *B. mirabilis* bestätigt worden; da dieser Autor aber meine schon im Juli 1901 erschienene vorläufige Mittheilung²⁾ nicht erwähnt, so muss ich annehmen, dass er von ihr keine Kenntniss gehabt hat.

Nach Behandlung mit „Kernfarbstoffen“ treten in den Zellen nur die von Bütschli³⁾ beschriebenen rothen Körner hervor, die ich als Chromatinkörner bezeichnet habe⁴⁾. Unter diesen verstehe ich lediglich Einschlüsse des Protoplasmas, welche die Eigenschaft besitzen, dass sie gewisse Farbstoffe intensiv speichern. Sie sind gewöhnlich rund, manche auch oval. Ihre Grösse ist ganz verschieden (Figg. 13—16); man kann in derselben Zelle Körnchen, die bei starker Vergrösserung wie ein Punkt erscheinen, neben solchen treffen, die den Amylinkörnern gleichen. Durchschnittlich sind sie kleiner wie diese, so zwar, dass sie die Grösse der ovalen Amylinkörner nie erreichen. In einem Mikrotomschnitt bestimmte ich den Durchmesser eines Chromatinkornes; er betrug 0,5—0,6 μ . Fig. 14 veranschaulicht im von Schwefelvakuaolen durchsetzten Protoplasma eines Schnittpräparates die schwarz gezeichneten Chromatinkörner neben den zahlreich vorhandenen Amylinkugeln. Ferner ist auffallend, dass die Zahl der in einer Zelle vorhandenen Chromatinkörner ebenfalls innerhalb weiter Grenzen schwankt; so berechnete ich für eine Zelle etwa 50, für eine andere etwa 200.

Da das Protoplasma häufig mit Schwefeltropfen und Amylin beladen ist, so kann man die kleinen Chromatinkörner in einer lebenden Zelle ohne Reagentien nicht identifizieren. Dass sie aber kein Kunstprodukt darstellen, geht daraus hervor, dass ich sie in lebenden Zellen mit Cyanin färben konnte. Nach Einwirkung einer 0,1%igen wässrigen Cyaninlösung traten sie schön distinkt hervor (Figg. 15, 16). Auch scheint mir die Thatsache, dass sie in gefärbten Präparaten bei verschiedener Fixirung (nach Flemming, nach Merkel, Jodjodkali) immer zu finden waren, dafür zu sprechen, dass sie durch die Fixirflüssigkeiten nicht erst ausgefällt worden sind.

Eine Identität zwischen den Amylinkugeln und den Chromatinkörnern besteht nicht. Um diesen Einwand, der leicht gemacht werden könnte, zu entkräften, löste ich aus Schnitten, die sowohl nach Flemming wie nach Merkel fixirt waren, durch Speichel das Amylin völlig heraus, sodass mit Jod keine Färbung mehr auftrat. Stets war dann die Anwendung von Farbstoffen von Erfolg begleitet. Man erkennt ferner bei gefärbten Präparaten neben dem ungefärbten Kohlehydrat die intensiv tingirten Körnchen. — In 0,2%iger Natronlauge ist das Chromatin langsam löslich; Schnitte, die 1—2 Stunden ihrer Wirkung ausgesetzt waren, liessen nur noch zum Theil eine Färbung hervortreten.

Ueber den morphologischen Werth der Chromatinkörner kann ich nur Vermuthungen aussprechen. Zunächst muss es schon unentschieden bleiben, ob alle Gebilde, die sich mit „Kernfarbstoffen“ tingiren, auch gleiche chemische Zusammensetzung haben. Denn nach der

1) l. c.

2) l. c.

3) l. c. 1890.

4) l. c.

von Fischer¹⁾ aufgestellten physikalischen Theorie der Färbung ist es sehr wohl möglich, dass ganz heterogene Körper dieselbe Farbe speichern; es kommt nur auf ihren physikalischen Zustand an. Man könnte demnach glauben, dass ein Theil der Chromatinkörner vielleicht den „Kernen“ entspräche, ebenso gut aber, dass solche überhaupt nicht vorhanden sind. Mit demselben Rechte lässt sich indessen auch mit dieser physikalischen Theorie die Annahme vereinen, dass die Chromatinkörner gleiche chemische Beschaffenheit besitzen, wie es die chemische Theorie der Färbung ohne Weiteres voraussetzt. Dann halte ich es aber für ausgeschlossen, dass die Chromatinkörner als Kerne anzusehen sind, denn ein solches Schwanken in der Grösse und Zahl der vorhandenen Kerne ist uns von keiner Pflanzenzelle bekannt. Vielleicht hätte, die gleiche chemische Zusammensetzung aller gefärbten Elemente vorausgesetzt, die Anschauung, dass bei *B. mirabilis* die Bestandtheile, welche den Kern aufbauen, schon vorhanden sind, sich aber noch nicht zu einem einheitlichen Organ kondensirt haben, einige Wahrscheinlichkeit für sich; sie fände auch eine Stütze an der Stellung, die die *Beggiatoen* im System einnehmen.

Wir gerathen so auf das Gebiet der Spekulation, während doch nur thatsächliche Beobachtungen zum Ziele führen können. Und auf Grund derselben können wir eben nur konstatiren, dass hier gewisse Bestandtheile der Zelle, deren Natur uns unbekannt ist, mit „Kernfarbstoffen“ sich intensiv tingiren. Unter Zusammenfassung dieses Ergebnisses mit dem oben Ausgeführten gelangen wir daher zu der Ueberzeugung, dass *B. mirabilis* bis auf Weiteres als kernlos anzusehen ist. Eine Verallgemeinerung dieses Resultates auf alle Bakterien ist natürlich nicht angängig, besonders da wir nicht einmal wissen, ob diese sämmtlich einen übereinstimmenden Bau besitzen, und es auch noch nicht ausgemacht ist, dass alle jetzt zu den Bakterien gerechneten Organismen diese systematische Einreihung verdienen.

Bei Beschreibung der Glashafenkultur erwähnte ich, dass ich in einer bestimmten Zone derselben fast ausschliesslich schwefelfreie *Beggiatoen* angetroffen habe. Man könnte nach Winogradsky's Angaben²⁾ Bedenken tragen, diese überhaupt der Spezies *B. mirabilis* zuzuzählen. Er sagt: „Zu der Gattung *Beggiatoa* sind nur Fäden zuzurechnen, welche Schwefelkörnchen enthalten. Das Vorhandensein von diesen bildet ein auffälliges morphologisches Merkmal, welches zur Charakteristik der Gattung gehört und auf eine Reihe von merkwürdigen Eigenschaften in der Ernährung und Lebensweise hindeutet. Das zu betonen war nothwendig, weil es eine ganze Menge von Organismen giebt, welche von *Beggiatoa* nur durch den Mangel an Schwefelkörnchen verschieden sind. Sie sind theils sehr schwach, manchmal fast unmerklich grün (und dann 'den *Oscillarien* zuzuzählen), theils auch vollkommen farblos. Ganz schwefelfreie *Beggiatoa*-Fäden sind ziemlich selten anzutreffen; es bleiben auch in H₂S-freien Medien spärliche Körnchen als winzige schwarze Pünktchen lange Zeit erhalten, welche nach ihrem äusserst charakteristischen Aussehen ohne weiteres als Schwefel erkannt werden können. In zweifelhaften Fällen entscheidet die Zufuhr von H₂S-haltiger Flüssigkeit, nur die *Beggiatoen* lagern dann Schwefelkörner ab“. Doch gehören diese von mir gefundenen schwefelfreien Fäden zweifellos zu *B. mirabilis*, denn wenn man ihnen Schwefelwasserstoff zuführt, erscheinen in ihnen die Schwefeltropfen. Ihr

¹⁾ l. c.

²⁾ l. c. 1888.

Vorkommen ist nicht so selten wie Winogradsky bei seinen allgemeinen Angaben über *Beggiatoa* — er hat *B. mirabilis* nicht untersucht — annimmt. Sie treten gemeinsam mit solchen Fäden auf, die nur sehr wenig, zum Theil nur noch in einigen Zellen Schwefel enthalten. Der Bau der schwefelfreien Zellen stimmt im Grossen und Ganzen mit dem der schwefelhaltigen überein, abweichend ist nur die Höhe. Während nur bei den dünneren schwefelführenden Fäden die Zellen auf dem Längsschnitt nahezu quadratisch erscheinen, ist das hier auch bei den dicken Formen recht häufig. Deswegen findet man auch im Protoplasma, das hier sehr deutlich, oft mit einem gelblichen Ton, hervortritt, zumeist nicht nur eine Reihe von Vakuolen, sondern deren mehrere. In Fig. 17 habe ich einige Zellen eines lebenden schwefelfreien Fadens durch die Zeichnung wiedergegeben; das Protoplasma, das zu grösseren Massen angehäuft sein kann, durchzieht das Innere der Zellen in zahlreichen Platten, sodass mehrere Reihen von Vakuolen gebildet werden. Die Zellen schwefelfreier Fäden sind sehr oft mit Amylinkörnern, die auch zu Klumpen zusammenliegen können, gradezu vollgestopft. Die Zellen der Fig. 17 enthalten nur wenige grössere Amylinkörner neben vielen kleinen Kugeln.

Im Zellsafte der schwefelfreien und auch mancher schwefelarmen Fäden bewegen sich nicht selten kleine, dunkel umrandete, gelbliche Körperchen langsam umher. Diese haben in der Aufsicht ovale Form, auf dem Querschnitt erscheinen sie kreisrund. Ihre Grösse ist verschieden, manche sind recht ansehnlich; meist finden sie sich in der Einzahl in einer Zelle (Fig. 18). Es sind Krystalle von oxalsaurem Kalk; sie sind löslich in verdünnter Salzsäure, unlöslich in verdünnter Essigsäure. Als solche Stoffwechselprodukte deute ich die in Engler's Zeichnungen¹⁾ angegebenen Körper im Innern schwefelarmer Zellen, die er für Bakterien hält; ihre Form stimmt mit der von mir beobachteten vollkommen überein, wenn sie auch in etwas abweichender Zahl eingetragen sind.

Bei meinen gelegentlichen Versuchen, Fäden auf dem Objektträger zu kultiviren, hatte ich auch schwefelfreie verwendet. Meine Annahme, dass diese binnen kurzer Zeit zu Grunde gehen würden, wenn sie nicht genügend Schwefelwasserstoff erhielten, war eine trügerische. Ich habe schwefelfreie Fäden neben schwefelarmen 10 Tage lang in Objektträgerkultur gehalten; täglich setzte ich mindestens einmal frisches Wasser aus dem Gefäss hinzu, dem diese *Beggiatoen* entstammten. Das Wasser war nicht ganz frei von Schwefelwasserstoff, von einer Speicherung des Schwefels im Innern der Zellen war aber nach Erneuerung desselben nichts zu bemerken. Die Fäden waren offenbar ganz gesund, sie befanden sich in lebhafter Bewegung. Manche von ihnen waren recht lang, ein Faden mass $1\frac{1}{2}$ cm. Durch eine Unvorsichtigkeit wurde diese Kultur gestört. Ich hielt nämlich die Präparate in einer feuchten Kammer und bewahrte darin auch zufällig einige Objektträgerkulturen auf, die in stark nach H_2S riechendem Wasser lagen. Dieser verbreitete sich nun unter der Glasglocke, wurde auch von dem Wasser, in dem sich die schwefelfreien Fäden befanden, absorbiert und kam ihnen zu Gute. Die Wirkung war derart, dass sie am nächsten Tage mit einer ziemlichen Menge kleiner Schwefeltropfen beladen waren. So bewies dieser unfreiwillig angestellte Versuch, dass die Fäden echte *Beggiatoen* seien.

¹⁾ l. c.

Die auffällige Erscheinung, dass die schwefelfreien Fäden von *B. mirabilis* sich so lange lebenskräftig erhielten, erklärt sich folgendermaassen. In dem Wasser, das immer neu hinzugesetzt wurde, waren Spuren von Schwefelwasserstoff gelöst. Dieser wurde von den *Beggiatoen* sogleich bis zu Schwefelsäure verbrannt, ohne dass es zu einer mehr als momentanen Speicherung des Schwefels kam. Die dabei frei werdende Energie wurde benutzt, um möglichst viel Amylin zu bilden; daher die grosse Menge dieses Kohlehydrates in den Zellen. Bei anderen Fäden wiederum mag nicht so viel Energie disponibel gewesen sein; deswegen enthielten sie wenig Amylinkörner.

Eine Zelltheilung konnte ich bei schwefelfreien Fäden nicht wahrnehmen; es scheint, als ob diese hier unterbliebe. Dagegen tritt bei den schwefelführenden normalen Fäden eine sehr lebhaftete Theilung auf. Den ganzen Verlauf dieses Vorganges an einer Zelle zu studiren (er ist vermuthlich recht langsam), ist mir nicht gelungen. Eine Zelle, die in die Theilung eintreten will, ist daran kenntlich, dass sie bedeutend höher ist als die ruhenden Zellen. Dann tritt in der Mitte zwischen den beiden sie begrenzenden Querwänden eine Ringleiste auf, die sich langsam in das Innere vorschiebt und so nach und nach die Zelle in zwei gleich grosse Stücke zertheilt. Da diese Ringleiste von Protoplasma überzogen ist, so erhalten die beiden neu entstandenen Zellen einen vollständigen protoplasmatischen Wandbeleg. Fig. 19 zeigt in der Aufsicht auf einen Faden bei *a* Zellen, in denen die junge Zellwand angelegt ist; dieselben Zellen sind in Fig. 20 auf dem optischen Längsschnitt wiedergegeben, hier ist das langsame Vorrücken der Querwand gut zu erkennen. Die Zelle bei *b* hat sich soeben getheilt, die bei *c* würde demnächst in die Theilung eingetreten sein. — Ein Mitwirken des Chromatins bei der Theilung habe ich nicht wahrnehmen können.

Durch fortgesetzte Theilung der Zellen müssten allmählich sehr lange Fäden entstehen. Ich habe auch thatsächlich solche wahren Riesen gesehen; doch ist dies die Ausnahme, man wird sie selbst unter einer grossen Zahl von Fäden selten finden. Der Grund dafür ist der, dass die langen Fäden in 2 oder mehrere Stücke zerbrechen. Auf diesem Wege vollzieht sich, soweit bekannt, einzig die Vermehrung der *B. mirabilis*. Und zwar erfolgt sie auf Kosten einiger Zellen. Diese sterben ab, ihr Inhalt wird desorganisirt, und schliesslich löst sich ihre Längswand; dadurch wird der Faden in zwei Stücke zerrissen. Nachdem schon vorher die an die abgestorbenen Zellen angrenzende Zelle jedes neu entstandenen Fadens in Folge ihres Turgors, der auf der anderen Seite kein Gegengewicht mehr fand, sich zu einer Endzelle vorgewölbt hat, wachsen nun beide Stücke heran, zerbrechen wieder u. s. w. An einem schwefelfreien Faden zeigt Fig. 21 das Zerbrechen in zwei Stücke; der Inhalt der abgestorbenen Zellen, in dem Amylinklumpen zu erkennen sind, ist herausgequollen. Oft sind es mechanische Einflüsse, die ein Zerfallen eines Fadens veranlassen, indem z. B. eine oder mehrere Zellen gequetscht werden und deshalb absterben. Doch kann das nicht die einzige Ursache sein. Es muss hier ein inneres Entwicklungsmoment bestehen, das uns gänzlich unbekannt ist, wonach die Fäden unter gewissen Umständen zerbrechen. Denn sonst würde ja eine so intensive Vermehrung der *Beggiatoen*, dass sie in verhältnissmässig kurzer Zeit grosse Rasen bilden, unerklärlich sein. Winogradsky¹⁾ hat nun allerdings durch Versuche an *B. alba* festgestellt,

¹⁾ l. c.

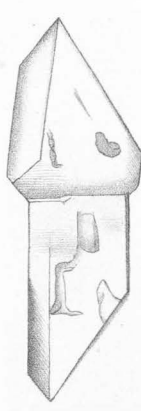
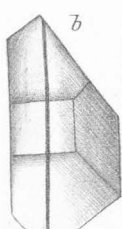
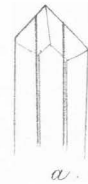
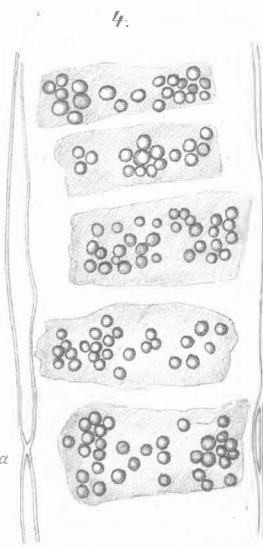
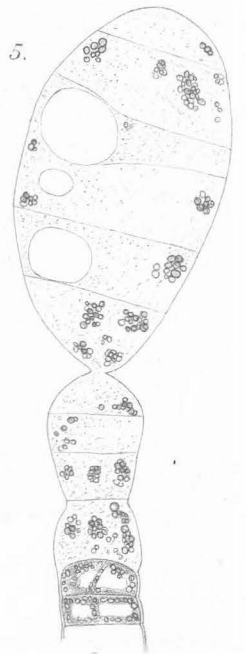
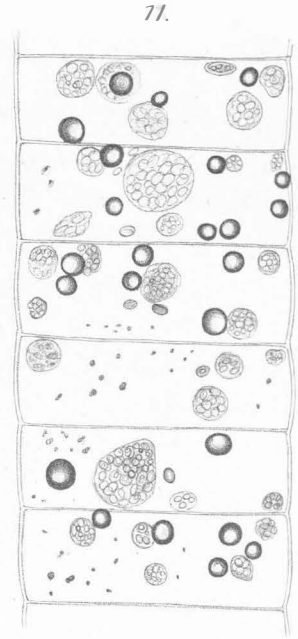
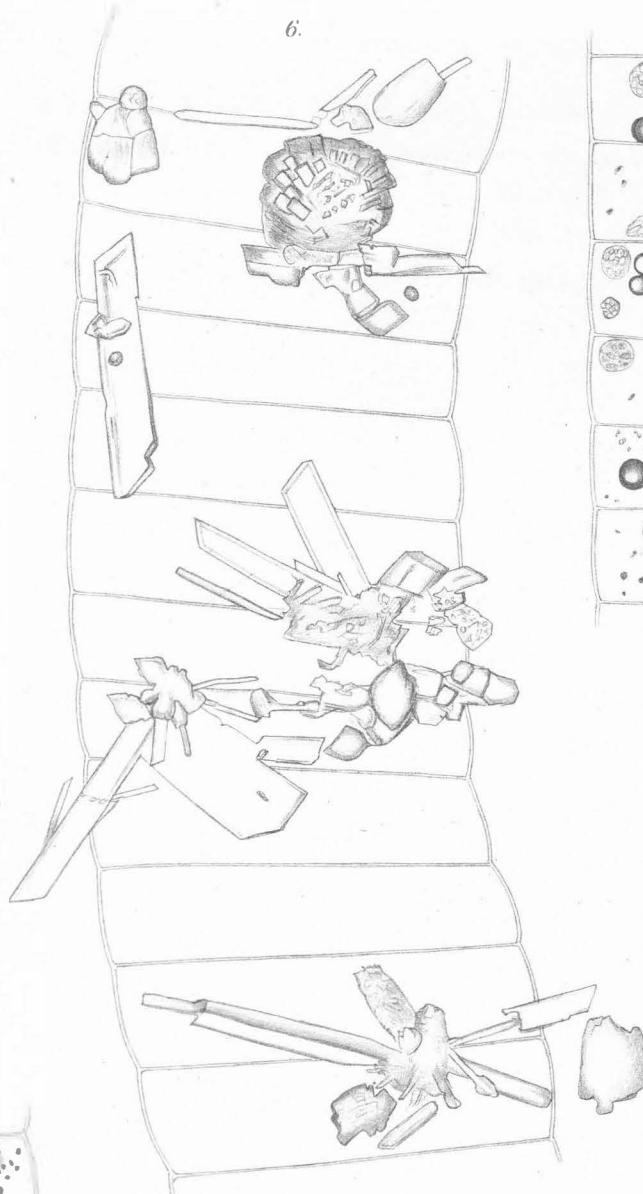
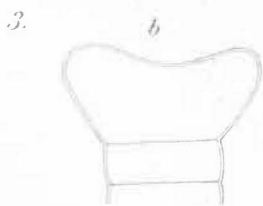
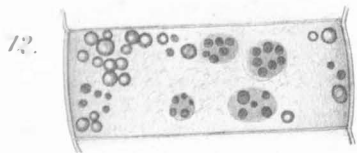
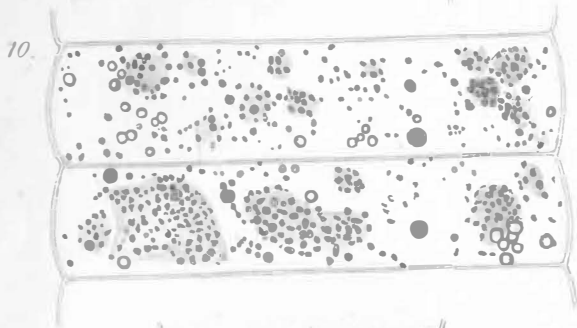
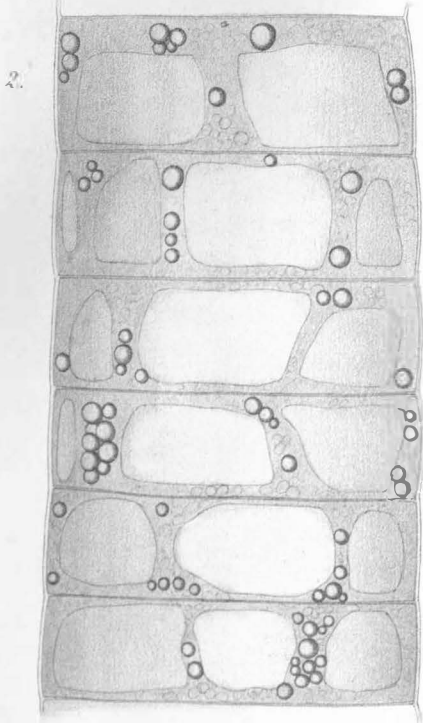
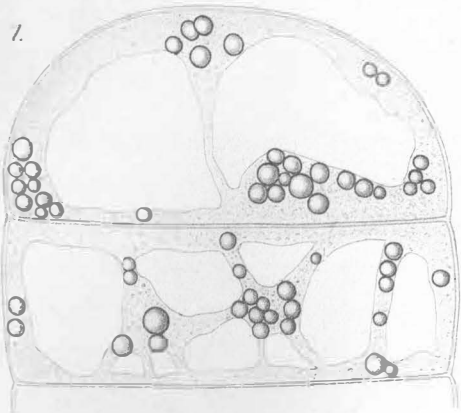
dass die Fäden nur unter ungünstigen Kulturbedingungen, bei Mangel an Schwefelwasserstoff, zerfallen; es sei diese Erscheinung also nicht zu vergleichen mit dem bei anderen Bakterienfäden entwicklungsgeschichtlich auftretenden Zerbrechen. Doch muss meines Erachtens eine solche Analogie nach dem oben Ausgeführten vorhanden sein. Denn dass noch eine andere uns unbekanntere Vermehrung bei *B. mirabilis* vorkommt, ist recht unwahrscheinlich. Die von Warming¹⁾ als *Beggiatoenkeime* beschriebenen Kugeln habe ich nicht beobachten können. Dagegen spricht ihnen Engler²⁾ einen Zusammenhang mit der Entwicklungsgeschichte von *B. mirabilis* ab; denn sie wachsen nie zu Fäden aus, sondern zerfallen nach der Theilung.

Eine kurze Zusammenfassung der wichtigsten Resultate meiner Untersuchungen ergibt Folgendes:

1. Die Zellen der *B. mirabilis* bestehen aus einer Zellwand und dem Protoplasma.
2. Die Längswand, welche wie die Querwand die Reaktionen der Pektinstoffe zeigt, setzt sich aus zwei Schichten von verschiedener Quellbarkeit zusammen.
3. Das Protoplasma liegt allseitig der Wand an und durchzieht in zuweilen dicken Platten das Lumen der Zelle, sodass der Zellsaftraum in mehrere, meist in einer Reihe angeordnete Vakuolen getheilt wird.
4. Eine Sonderung des Protoplasmas in Rindenschicht und Centralkörper ist nicht vorhanden. Ein Zellkern ist weder in lebenden noch in abgetöteten und gefärbten Zellen nachweisbar; die Zellen sind deshalb vorerst als kernlos anzusehen.
5. Als Einschlüsse des Protoplasmas finden sich:
 - a) Schwefeltropfen, die bei abgestorbenen Fäden auskrystallisiren können,
 - b) runde und ovale Körnchen eines Kohlehydrates (Amylin) aus der nächsten Verwandtschaft der Stärke,
 - c) Chromatinkörner verschiedener Grösse und Zahl.
6. Schwefelfreie Fäden bleiben längere Zeit lebenskräftig; ihre Zellen sind gewöhnlich höher als die der schwefelführenden Fäden und enthalten im Zellsafte häufig Krystalle von oxalsaurem Kalk.
7. Die intercalär auftretende Zelltheilung vollzieht sich durch Durchschnürung der Zelle, die Vermehrung durch Zerbrechen der Fäden.

¹⁾ l. c.
c.

Kiel, den 9. Mai 1902.



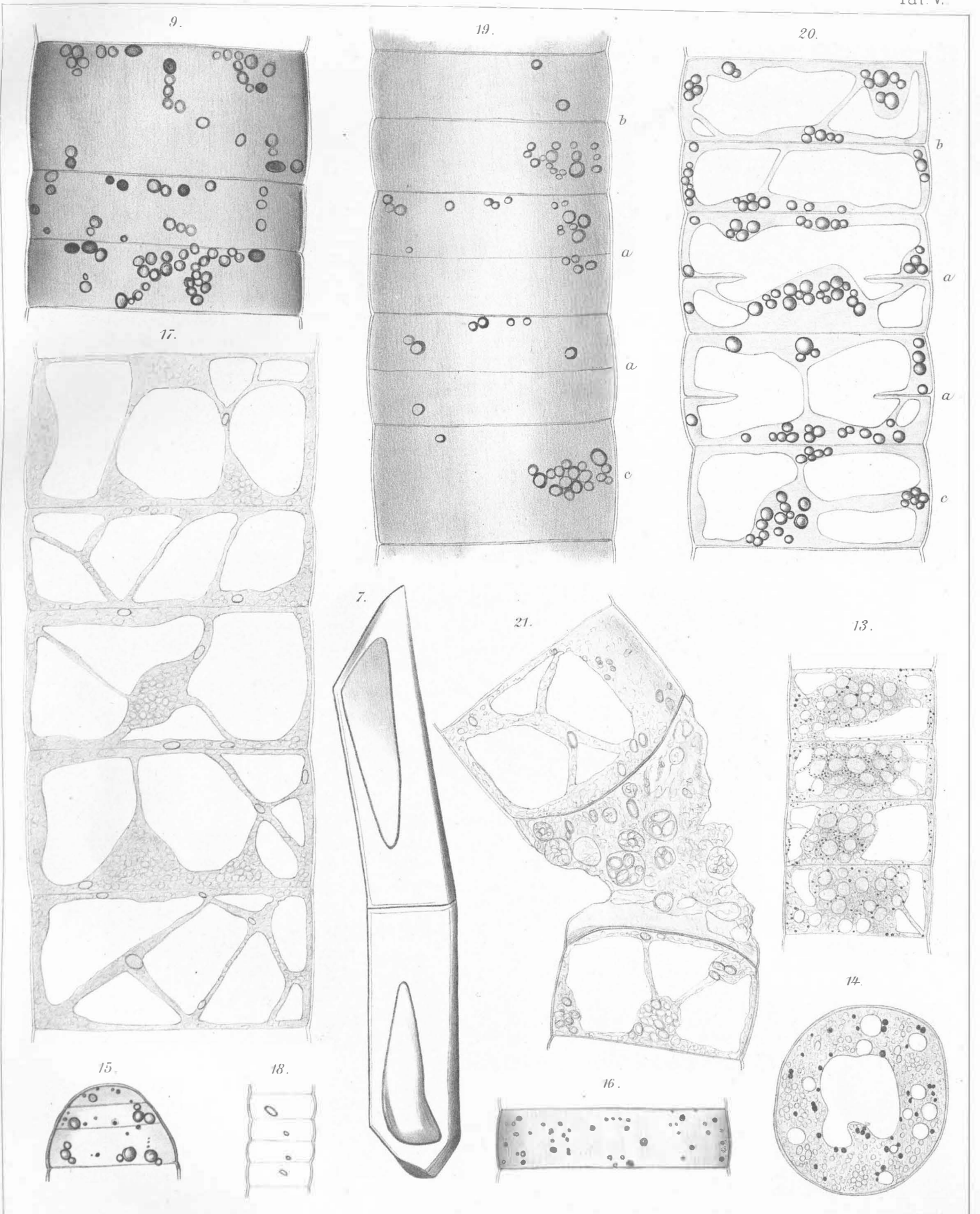
Erklärung der Figuren. Tafel IV und V.

(Optischer Apparat: Zeiss, Objektive A, DD, Okular 2;
Winkel, Homogene Oelimmersion 1,8 mm, Okulare 2,4 [für Fluoritsystem]).

Beggiatoa mirabilis.

- Fig. 1. Optischer Längsschnitt der Spitze eines lebenden Fadens. Im Protoplasma liegen zahlreiche Schwefeltropfen. $\frac{1500}{1}$.
- Fig. 2. Mehrere Gliederzellen eines Fadens bei Einstellung etwas unterhalb der Oberfläche. Im Protoplasma, das durch in einer Reihe angeordnete Vakuolen durchbrochen wird, liegen relativ wenige Schwefeltropfen und viele kleine Amylinkörner. $\frac{1500}{1}$.
- Fig. 3. Spitze eines Fadens, dessen Endzelle nach zwei Seiten vorgewölbt ist. Bei *a* seitliche Ansicht, bei *b* Aufsicht. Das Protoplasma ist nicht eingezeichnet, bei *a* ist die Lage der Schwefeltropfen angedeutet. $\frac{420}{1}$.
- Fig. 4. Stück eines Fadens, der 30 Minuten in Chlorzinkjod gelegen hatte. Die Längswand ist zum Theil gespalten, bei *a* ist der Uebergang beider Schichten in einander gut zu erkennen. Die Querwände sind verquollen, ebenso das Protoplasma, in dem eine grosse Zahl kleinerer Schwefeltropfen liegt. $\frac{1500}{1}$.
- Fig. 5. Absterbeerscheinungen einer Reihe von Zellen eines lebenden Fadens. Dieselben sind stark angeschwollen, in ihrem Innern ist neben Schwefeltropfen eine grosse Zahl wirbelnder Amylinkörner zu erkennen. $\frac{420}{1}$.
- Fig. 6. Eine Anzahl Gliederzellen eines Fadens, auf denen Schwefel in verschiedenen Formen auskrystallisirt ist. Präp.: Chromosmiumessigsäure (n. Flemming), conc. Glycerin. $\frac{1500}{1}$.
- Fig. 7. Zwillingkrystall vom Schwefel, der aus einem Faden auskrystallisirt ist; in jedem Einzelindividuum ist ein Hohlraum zu erkennen. Präp.: Chromosmiumessigsäure (n. Flemming), conc. Glycerin. $\frac{1500}{1}$.
- Fig. 8. Krystalle vom Schwefel, der aus einem Faden auskrystallisirt ist. Präp.: Chromosmiumessigsäure (n. Flemming), Glyceringelatine. $\frac{1500}{1}$.
- Fig. 9. Aufsichtsbild dreier Gliederzellen eines Fadens. Nach Jodbehandlung treten im Wandbeleg die schwarz eingezeichneten, meist ovalen Amylinkörner hervor. $\frac{1500}{1}$.
- Fig. 10. Optischer Längsschnitt zweier Gliederzellen eines absterbenden Fadens, in denen eine grosse Zahl meist kleiner Amylinkörner in lebhafter Bewegung begriffen ist. $\frac{1500}{1}$.
- Fig. 11. Optischer Längsschnitt einiger Gliederzellen eines schwefelarmen abgestorbenen Fadens. Im Innern der Zelle, in der eine Sonderung in Protoplasma und Vakuolen nicht mehr zu erkennen ist, liegen grosse Zusammenballungen des Amylins. $\frac{1500}{1}$.
- Fig. 12. Gliederzelle eines Fadens bei Einstellung etwas unter die Oberfläche. Im protoplasmatischen Wandbeleg treten nach Jodbehandlung die Amylinkörner hervor, die an einigen Stellen einer bräunlichen Masse eingebettet zu sein scheinen. $\frac{1500}{1}$.
- Fig. 13. Optischer Längsschnitt einiger Gliederzellen eines Fadens, in deren Innern dichte Protoplasmamassen, von Schwefelvakuolen durchsetzt, lagern. Die zahlreichen Chromatinkörner sind schwarz eingezeichnet. Präp.: Chromsäure-Platinchlorid (n. Merkel), Hämatoxylin n. Heidenhain, Glycerin. $\frac{1500}{1}$.
- Fig. 14. Mikrotomschnitt durch eine Zelle. Im dichten Wandbeleg sind neben Schwefelvakuolen die verschieden grossen Chromatinkörner schwarz eingetragen; ausserdem sind zahlreiche kleinere Amylinkörner zu erkennen. Präp.: Chromsäure-Platinchlorid (n. Merkel), Hämatoxylin n. Heidenhain, Glycerin. $\frac{1500}{1}$.

- Fig. 15. Spitze eines Fadens, der lebend mit Cyanin gefärbt wurde. Die im protoplasmatischen Wandbeleg gefärbten Chromatinkörner sind schwarz eingetragen. $\frac{1500}{1}$.
- Fig. 16. Gliederzelle eines lebenden schwefelfreien Fadens bei Oberflächeneinstellung. Die Chromatinkörner, die nach Färbung mit Cyanin hervortreten, sind schwarz wiedergegeben. $\frac{1500}{1}$.
- Fig. 17. Optischer Längsschnitt durch mehrere Gliederzellen eines lebenden schwefelfreien Fadens. Das von zahlreichen Vakuolen durchzogene Protoplasma enthält grosse ovale Amylinkörner in geringer Anzahl neben vielen kleinen Amylinkugeln. $\frac{1500}{1}$.
- Fig. 18. Optischer Längsschnitt einiger Gliederzellen eines lebenden schwefelfreien Fadens, in deren Zellsaft sich Krystalle von Calciumoxalat bewegen. Das Protoplasma ist nicht eingezeichnet. $\frac{420}{1}$.
- Fig. 19. Aufsichtsbild einiger in Theilung begriffenen Gliederzellen eines Fadens. Bei *a* ist die neue Zellwand angelegt, bei *b* die Theilung schon vollendet, bei *c* würde sie demnächst eingetreten sein. Präp.: Chromosmiumessigsäure (n. Flemming), Hämatoxylin n. Heidenhain, Glycerin. $\frac{1500}{1}$.
- Fig. 20. Dieselben Zellen wie in Fig. 19 im optischen Längsschnitt.
- Fig. 21. Zerbrecen eines lebenden schwefelfreien Fadens in zwei Stücke. Aus den abgestorbenen Zellen ist der Inhalt herausgequollen; in ihm sind viele Amylinkörner in Klumpen angeordnet. $\frac{1500}{1}$.



Chronologisches Verzeichniss der mir zugänglich gewesenen Litteratur über die Kernfrage bei den Bakterien.

1880. Schmitz, Über die Structur des Protoplasmas und der Zellkerne der Pflanzenzellen. Sitzungsber. d. Niederrhein. Gesellsch. f. Natur- u. Heilkunde zu Bonn.
1888. Ernst, Über den *Bacillus xerosis* und seine Sporenbildung. Zeitschr. f. Hygiene. IV.
Neisser, Versuche über die Sporenbildung bei Xerosebacillen, Streptokokken und Choleraspirillen. Zeitschr. f. Hygiene. IV.
Schottelius, Beobachtung kernartiger Körper im Innern von Spaltpilzen. Centralbl. f. Bakt. IV.
1889. Babes, Über isolirt färbbare Antheile von Bakterien. Zeitschr. f. Hygiene. V.
Ernst, Über Kern- und Sporenbildung in Bakterien. Zeitschr. f. Hygiene. V.
1890. Bütschli, Über den Bau der Bakterien und verwandter Organismen. Vortrag. Leipzig.
1891. Fischer, Die Plasmolyse der Bakterien. Ber. d. Sächs. Gesellsch. d. Wissensch. Math.-physische Klasse. 43. Bd.
Protopopoff, Sur la question de la structure des Bactéries. Annales de l'Institut Pasteur. V.
Zettnow, Über den Bau der Bakterien. Centralbl. f. Bakt. X.
1892. Förster, Über eine merkwürdige Erscheinung bei *Chromatium Okenii* Ehrbg. sp. Centralbl. f. Bakt. XI.
Frenzel, Über den Bau und die Sporenbildung grüner Kaulquappenbacillen. Zeitschr. f. Hygiene. XI.
Sjöbring, Über Kerne und Theilungen bei den Bakterien. Centralbl. f. Bakt. XI.
Trambusti u. Galeotti, Neuer Beitrag zum Studium der inneren Struktur der Bakterien. Centralbl. f. Bakt. XI.
Zukal, Über den Zellinhalt der *Schizophyten*. Sitzungsber. d. mathem.-naturw. Klasse der Kaiserl. Akademie d. Wissensch. zu Wien. 101. Bd. Abtheilung 1.
1893. Mitrophanow, Étude sur l'organisation des Bactéries. Internat. Monatsschrift für Anatomie und Physiologie. X.
1894. Ilkewicz, Über die Kerne der Milzbrandsporen. Centralbl. f. Bakt. XV.
Migula, Über den Zellinhalt von *Bacillus oxalaticus* Zopf. Arbeiten des Bakter. Instituts zu Karlsruhe.
1895. Babes, Beobachtungen über die metachromatischen Körperchen, Sporenbildung, Verzweigung, Kolben- und Kapselbildung pathogener Bakterien. Zeitschr. f. Hygiene. XX.
Fischer, Untersuchungen über Bakterien. Jahrb. f. wissensch. Botanik. XXVII.
1896. Bütschli, Weitere Ausführungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Leipzig.
Löwit, Zur Morphologie der Bakterien. Centralbl. f. Bakt. XIX.
1897. Fischer, Untersuchungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Jena.
Kunstler et Busquet, Recherches sur les grains rouges. Comptes rendus de l'Acad. des sciences. Tome 125.
Kunstler et Busquet, Sur la valeur nucléolaire du corps central des Bactériacées. Comptes rendus de l'Acad. des sciences. Tome 125.
Meyer, Neues über die Morphologie der Bacterienzelle und die Entwicklungsgeschichte der Bacterien-sporen. Sitzungsber. d. Gesellsch. z. Beförderung d. gesamt. Naturwissensch. zu Marburg.

1897. Meyer, Studien über die Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Bakterien, ausgeführt an *Astasia asterospora* A. M. und *Bacillus tumescens* Zopf. Flora. 84. Bd. Ergänzungsband z. Jahrg. 1897.
1898. Migula, Weitere Untersuchungen über *Astasia asterospora* Meyer. Flora. 85. Bd.
Růžicka, Zur Frage von der inneren Struktur der Mikroorganismen. Centralbl. f. Bakt. XXIII.
Wagner, Coli- und Typhusbakterien sind einkernige Zellen. Centralbl. f. Bakt. XXIII.
Ziemann, Eine Methode der Doppelfärbung bei Flagellaten, Pilzen, Spirillen und Bakterien, sowie bei einigen Amöben. Centralbl. f. Bakt. XXIV.
1899. Marx, Zur Morphologie des Rotzbacillus. Centralbl. f. Bakt. XXV.
Meyer, Über Geisseln, Reservestoffe, Kerne und Sporenbildung der Bakterien. Flora. 86. Bd.
Muhlschlegel, Ein Beitrag zur Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Bakterien nach Studien an drei Körnerbacillen. Arbeiten aus d. Kaiserl. Gesundheitsamt. XV.
Zettnow, Romanowski's Färbung bei Bakterien. Zeitschr. f. Hygiene. XXX.
1900. Emmerich u. Saida, Über die morphologischen Veränderungen der Milzbrandbacillen bei ihrer Auflösung durch Pyocyanase. Centralbl. f. Bakt. XXVII.
Feinberg, Über den Bau der Bakterien. Deutsche Medizinische Wochenschrift.
Feinberg, Über den Bau der Bakterien. Centralbl. f. Bakt. XXVII.
Marx u. Woithe, Morphologische Untersuchungen zur Biologie der Bakterien. Centralbl. f. Bakt. XXVIII.
Zettnow, Romanowski's Färbung bei Bakterien. Centralbl. f. Bakt. XXVII.
1901. Hinze, Über den Bau der Zellen von *Beggiatoa mirabilis* Cohn. Ber. d. Deutsch. Botan. Gesellsch. XIX.
Krompacher, Untersuchungen über das Vorkommen metachromatischer Körnchen bei sporentragenden Bakterien und Beiträge zur Kenntnis der Babes-Ernst'schen Körperchen. Centralbl. f. Bakt. XXX.
Marx, Über Sporenbildung und Sporenfärbung. Centralbl. f. Bakt. XXIX.
Nakanishi, Über den Bau der Bakterien. Centralbl. f. Bakt. XXX.
1902. Bütschli, Bemerkungen über Cyanophyceen und Bacteriaceen. Archiv für Protistenkunde. I.
Ernst, Über den Bau der Bakterien. Centralbl. f. Bakt. 2. Abtheilung. VIII.
Massart, Sur le protoplasme des Schizophytes. Recueil de l'Institut Botanique, Université de Bruxelles. Tome V.
-